

Klinikopatológiai jellemzők és prognosztikai biomarkerek vizsgálata agyi áttétet adó tüdőrákban

Doktori értekezés

Dr. Fábián Katalin

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Moldvay Judit, PhD, egyetemi magántanár

Hivatalos bírálók: Dr. Bittner Nóra, PhD, főorvos

Dr. Borka Katalin PhD, egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Nagy Péter, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Gálffy Gabriella, PhD, egyetemi docens

Dr. Tóvári József, PhD, osztályvezető

Budapest

2018

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke

1. Bevezetés.....	1
1.1 A központi idegrendszeri áttétek epidemiológiája.....	4
1.2 Az agyi áttétek tünettana, klinikai megjelenése.....	5
1.3 Az agyi áttétek prognózisa és kezelése	6
1.4 Az agyi áttétek és a peritumorális ödéma	9
1.4.1 Az agyi mikrokörnyezet szerepe daganatos folyamatokban.....	9
1.4.2 A peritumorális ödéma és az agyi áttét vascularisatiója	11
1.5 Agyi áttét tüdőrákban, megjelenésének prediktív faktorai	12
1.6 A tüdőrák patológiája az agyi áttétek vonatkozásában	12
1.6.1 EGFR mutáció és agyi áttétképzés.....	14
1.6.2 KRAS mutáció és agyi áttétképzés	16
1.6.3 ALK gén transzlokáció és agyi áttétképzés	16
1.7 Biomarkerek az agyi áttétekben	18
1.7.1 A sejtadhézió szerepe az agyi áttétképzésben.....	19
1.7.2 A sejtproliferáció markerei	25
2. Célkitűzések	26
3. Betegek és módszerek.....	28
3.1 Betegcsoportok.....	28
3.1.1 Az agyi áttéttel rendelkező klinikai kohorsz.....	28
3.1.2 Primer tüdő tumor és agyi áttét immunhisztokémiai analízise ...	31
3.1.3 A KRAS mutáció incidenciája és prognózisa agyi áttétet adó tüdő adenocarcinomákban.....	32
3.2 Az agyi áttétek körül kialakuló ödéma vizsgálata	34
3.3 Szöveti minták.....	35
3.4 Immunhisztokémiai reakciók	36
3.5 KRAS mutáció analízis	39

3.6 Kiértékelés, statisztikai próbák	40
3.7 Etikai engedélyek	42
4. Eredmények	43
4.1 Agyi áttétet adó tüdőrák	43
4.1.1 Peritumorális ödéma.....	46
4.1.2 Tumor stádiumok	47
4.1.3 Túlélés	47
4.1.4 Metasztatizálási idő	50
4.1.5 „Brain only” metasztázis.....	52
4.1.6 50 év alatti betegek.....	53
4.2 Primer tumor és agyi áttét immunhisztokémiai vizsgálata	54
4.3 A KRAS mutáció incidenciája és prognosztikai jelentősége agyi áttétet adó tüdő adenocarcinomákban	57
4.3.1 A betegek jellemzői és a metasztatizálási mintázat	57
4.3.2 A KRAS státusz és a metasztatizálási mintázat	57
4.3.3 A túlélés vizsgálata	58
5. Megbeszélés.....	59
5.1 Prognosztikai tényezők az agyi áttéttel rendelkező tüdőrákos betegeknél.....	59
5.1.1 A primer tumor lokalizációja	59
5.1.2 Egyéb klinikai jellegű prognosztikai faktorok	61
5.1.3 Onkoterápiák prognosztikai jelentősége	63
5.1.4 Az agyi áttét multiplicitása, mérete és lokalizációja.....	64
5.2 Az agyi áttétek klinikopatológiai jellemzői	65
5.3 Az agyi áttétek körül kialakuló peritumorális ödéma	66
5.3.1 Peritumorális ödéma fiatal betegekben	67
5.4 A metasztatizálási idő jelentősége	67
5.5 A „brain only” tumorok jelentősége	69
5.6 Szöveti markerek szerepe az agyi áttétképzésben	70

5.7 A KRAS mutáció incidenciája és prognosztikai jelentősége távoli áttétet adó tüdő adenocarcinomában	72
6. Következtetések	75
7. Összefoglaló.....	78
8. Summary	79
9. Irodalomjegyzék.....	80
10. Saját publikációk jegyzéke	99
A disszertációhoz kapcsolódó közlemények.....	99
További publikációk.....	99
11. Köszönetnyilvánítás	103

Rövidítések jegyzéke

ADC: adenocarcinoma
AKT: Ak strain transforming (más néven protein kináz B)
ALK: anaplastikus lymphoma kináz
ANOVA: analysis of variance
AQP: aquaporin
Bax: Bcl-2-associated X protein
Bcl-2: B-cell lymphoma 2
BSC: best supportive care (legjobb támogató kezelés)
CAS: cellular apoptosis susceptibility protein
CEA: carcinoembrionális antigén
CI: confidence interval
CK-7: citokeratin-7
COX-2: cyclooxygenase-2
CT: computed tomography
DAB: diaminobenzidine-tetrahydrochloride
DNS: dezoxiribonukleinsav
ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group
EGFR: epidermal growth factor receptor
EML-4: echinoderm microtubule-associated protein-like 4
EMT: epitheliális-mesenchymális transzformáció
FLAIR: fluid attenuation inversion recovery
GPA: graded prognostic assesement
HER2: human epidermal growth factor 2
HIER: heat-induced epitope retrieval
HIF α : hypoxia inducible factor α
HR: hazard ratio
JAM-A: junctional adhesion molecule A
KPS: Karnovsky performance status
KRAS: Kirsten Rat Sarcoma vírus onkogénje
LDH: laktát-dehidrogenáz

MET: mesenchymal-epithelial transition factor
MRI: magnetic resonance imaging
mRNS: messenger ribonuklein sav
mTOR: mammalian target of rapamycin
MVD: microvessel density
N-CAM: neural cell adhesion molecule
NCCN: National Comprehensive Cancer Network
NSCLC: non-small cell lung cancer (nem-kissejtes tüdőrák)
OR: odds ratio
OS: overall survival (teljes túlélés)
PCR: polymerase chain reaction
PD-1: programmed cell death protein 1
PD-L1: programmed death-ligand 1
PI3K: foszfoinozitol-3-kináz
pRB: retinoblastoma protein
PTEN: phosphatase and tensin homolog
RFLP: restriction fragment length polymorphism
RNS: ribonukleinsav
RPA: recursive partitioning analysis
RTOG: Radiation Therapy Oncology Group
SCC: squamous cell carcinoma (laphámrák)
SCLC: small cell lung cancer (kissejtes tüdőrák)
SNP: single nucleotide polymorphism
SRS: stereotaxic radiosurgery (sztereotaxiás besugárzás)
TGF- β : transforming growth factor β
TKI: tirozin-kináz inhibitor
TMA: tissue microarray
TNM: Tumor Node Metastasis (primer tumor, nyirokcsomó, távoli áttét)
TRS: target retrieval solution
TRU: terminal respiratory unit
TTF-1: thyroidea transzkripció faktor
VEGF: vascular endothelial growth factor

WBRT: whole brain radiotherapy (teljes agyi sugárterápia)

WHO: World Health Organization

WT: wild type (vad típus)

ZO-1,-2,-3: zonula occludens protein 1,2,3

1. Bevezetés

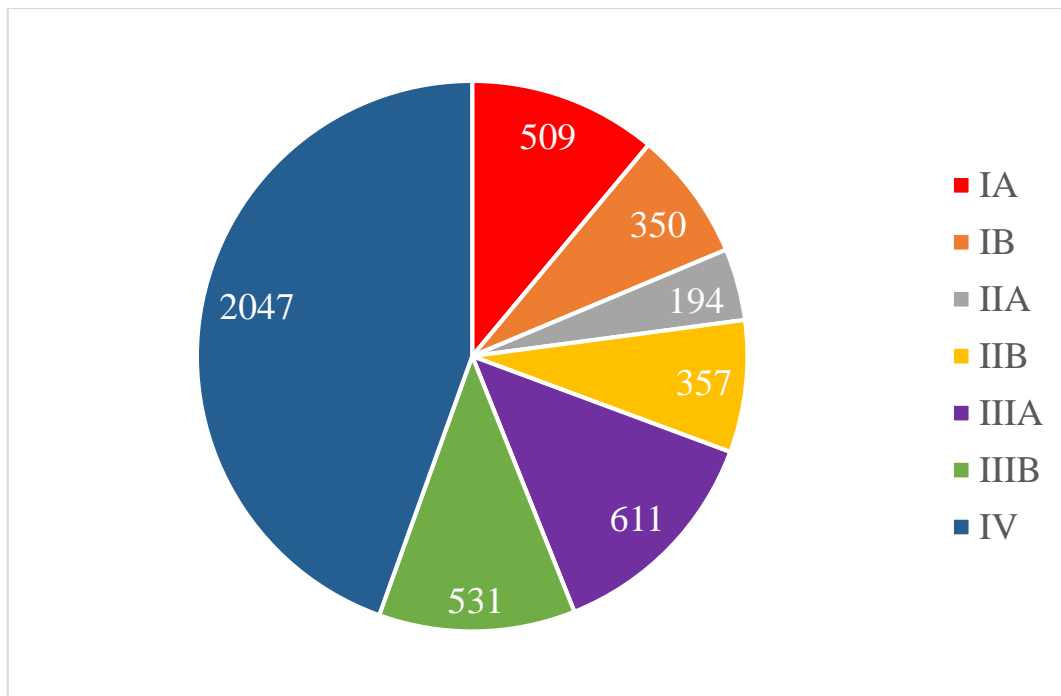
A daganatos megbetegedések világszerte jelentős egészségügyi problémát jelentenek, és a gazdaságilag fejlett országokban a leggyakoribb halálokok közé tartoznak. A statisztikai adatok alapján a tumoros megbetegedések pár év múlva megközelíthetik és meg is haladhatják a cardiovascularis eredetű halálozási értékeket [1]. A malignus daganatok közül a tüdőrák rendelkezik a világon a legmagasabb halálozási mutatókkal [2]. Az Egyesült Államokban 2015-ben 221200 új esetet diagnosztizáltak, és 158040 beteg halálát okozta tüdőrák [1]. A betegség prognózisa rendkívül rossz, az ötéves várható túlélés mindössze 16% [2].

A tüdőrák Magyarországon is a leggyakoribb daganatos halálok férfiak és nők körében egyaránt. A betegség prevalenciája 21000 körül mozog. Hazánkban évente közel 8000 új esetet diagnosztizálnak, és a betegség incidenciája elsősorban a nők körében emelkedik. Míg 1990-ben a tüdőrákos betegek 81%-a volt férfi, addig 2014-ben már csak 60%. [3]. A tüdőrák az idősebb korosztály betegsége, 40 éves kor alatt ritkán fordul elő. 2014-ben a betegek 73,7%-a volt 60 évesnél idősebb [3].

A korábban használt nomenklatúra szerint, és a klinikai gyakorlatban még jelenleg is, gyakran megkülönböztetünk a tüdőrákon belül nem-kissejtes tüdőrákot (*non-small cell lung cancer* (NSCLC)), amelybe az esetek 80-85%-a tartozik, és kissejtes tüdőrákot (*small cell lung cancer* (SCLC)), amely 15-20% gyakoriságú. Ez utóbbi alcsoport magas letalitású, gyors lefolyású betegség; az ötéves túlélés alig éri el az 1%-ot. Az elmúlt időszakban ez a hagyományos elnevezés jelentős mértékben átalakult. Igazolódott, hogy a nem-kissejtes tüdőrákon belül számos, jelentős mértékben eltérő szövettani altípus található, melyek klinikai megjelenése és kezelése is nagymértékben különbözik. Így a jelenleg érvényben lévő beosztás szerint a tüdőrákoknál megkülönböztetünk adenocarcinomát (ADC) és laphámrákot (*squamous cell carcinoma* (SCC)) – melyek korábban az NSCLC kategóriába tartoztak –, valamint neuroendocrin carcinomákat. Ide a kissejtes tüdőrákon kívül a korábban az NSCLC csoportba eső nagysejtes carcinoma és carcinoid is tartozik [4]. Ezen felosztás segítségével a daganatok biológiai jellemzői jobban elkülöníthetők.

A tüdőrák kezelésének főbb pillérei a primer tumor sebészi eltávolítása, a sugárterápia, valamint a szisztémás kemoterápia, illetve a molekuláris célzott kezelés. A terápiás palettán a közelmúltban jelent meg az immunterápia, elsősorban az immun check-point gátlók alkalmazásával. Az egyre bővülő kezelési lehetőségek ellenére a betegség öt éves túlélése sajnálatos módon nem javult jelentősen az utóbbi években. Mutatja ezt az is, hogy amennyiben a diagnózis felállításakor már távoli áttét mutatható ki, akkor az öt éves túlélés 1% körül mozog.

Napjainkban a tüdőrák stádiumait a 8. verziójú TNM klasszifikáció alapján határozzuk meg. Korai (I-III A) stádiumban a betegség gyakran tünetmentes, ezért legtöbbször késői (IIIB-IV) stádiumban kerül felfedezésre. A diagnózis felállításakor a betegeknek mindössze 25%-a alkalmas sebészi kezelésre [5]. Míg 2014-ben hazánkban a betegek csak 21,5%-ában lehetett elvégezni a tüdőtumor reszekcióját kuratív jelleggel, addig ez az arány 2017-ben 26% volt. 2014-ben a diagnóziskor távoli áttéttel rendelkező, azaz IV stádiumú betegségben szenvedők az esetek 45,3%-át jelentették [3]. Ezen adat 2017-ben a korábbi évektől csak minimálisan tért el, IV stádiummal a betegek 43,9%-a került felfedezésre (1. ábra) [6].



1. ábra: A betegség stádiumai a tüdőrák diagnózisakor 2017-ben Magyarországon (a Korányi Bulletin, 2018 adatai alapján).

Az agyi áttét megjelenése nagymértékben rontja a túlélést és az életminőséget. Tüdőrák esetében a betegek 30-50%-ában várható agyi áttét megjelenése a betegség lefolyása során, ami a hazai incidencia adatok szerint évente legalább 2000 új beteget jelent [3]. Az agyi áttéttel rendelkező betegek ellátása jelentős kihívást jelent az egészségügyben dolgozók számára, és nagy költségeket ró az ellátórendszerre, ezért rendkívül fontos azon faktorok meghatározása, melyek az agyi metasztázis kialakulására vonatkozóan prediktív értékkel bírnak.

1.1 A központi idegrendszeri áttétek epidemiológiája

Az agyi áttétek a leggyakoribb intracranialis tumorok felnőttkorban. Az Egyesült Államokban évente 170000 új malignus daganatos esetet diagnosztizálnak központi idegrendszeri metasztázissal. Az agyi áttétek előfordulása folyamatosan növekszik. Ennek háttérében a tumoros megbetegedések világszerte emelkedő incidenciája, a magasabb életkort elérők növekvő száma, a szubklinikailag jelentkező áttétek korábban történő felfedezése, az MRI vizsgálatok elterjedése, valamint a jobban kontrollálható szisztémás daganatos betegségek állhatnak [7-9]. Malignus betegségek 10-20%-ában számíthatunk agyi áttét kialakulására [10]. Az agyi metasztázisok 40-50%-a tüdőrákból, 15-25%-a emlőrákból, 5-20%-a pedig melanoma malignumból alakul ki [11].

Az agyi áttéttel rendelkező betegek medián életkora a diagnóziskor 57 és 63 év között mozgott az egyes vizsgálatokban. Ez az adat az elmúlt 20 év alatt nem változott jelentősen [9, 12]. A legmagasabb agyi áttét incidenciát tüdőrákban a 40-49 életév között találták, míg melanoma malignum, vese carcinoma és a colorectalis carcinoma esetén 50-59 év között volt a leggyakrabban agyi metasztázis kimutatható. Emlőrák esetén a 20-39 év jelentett gyakoribb előfordulást [9], ami magyarázható azzal, hogy elsősorban a fiatalabb populációban jelennek meg a HER2 pozitív daganatok, amelyekről ismert, hogy magasabb az agyi áttétképző képességük, mint az egyéb típusú emlőrákoknak [9].

Az elmúlt évek adatai szerint – valamennyi daganattípust egybevéve – szignifikánsan több a nőbeteg az agyi áttéttel rendelkezők között, ezzel szemben 20 évvel korábban a férfiak domináltak ebben a betegcsoportban. Ennek háttérében részben a nők körében egyre gyakoribb dohányzás és az ennek következtében egyre gyakrabban kialakuló tüdőrák, továbbá az eredményesebb daganatellenes kezelés miatti hosszabb túlélés is állhat. Ez utóbbi faktor különösen az emlőrák okozta agyi áttétes esetekben játszik szerepet [9].

1.2 Az agyi áttétek tünettana, klinikai megjelenése

Az agyban növekvő daganatok leggyakrabban az alábbi tüneteket okozzák: fokális neurológiai deficit, görcsök, vagy általános neurológiai tünetek, mint például fejfájás, demencia, személyiségváltozás, továbbá tartási vagy járási deficit. Egyes vizsgálatok szerint az agyi áttéttel rendelkező betegek 65%-ában kognitív funkciózavar mutatható ki [11].

A progrediáló fokális neurológiai deficit oka a tumor vagy a körülötte kialakuló ödéma hatására kialakuló kompresszió, amely károsítja az idegsejteket és a fehérállományban futó pályákat. Stroke-hoz hasonló tünetegyüttes alakulhat ki a tumorok bevérezésekor, amely a gyorsan növekvő primer agyi tumorok közül a glioblastoma multiforméra, a metasztázisok közül pedig főleg a melanoma malignum és a choriocarcinoma áttéteire jellemző. A görcsök kialakulása összefügg az agykéregben futó neuronális hálózatok megzavarásával, amire bizonyíték, hogy a corticalis áttétek gyakrabban okoznak epilepsziás rohamokat, mint a subcorticalis elhelyezkedésűek. Az általános neurológiai tünetek, mint például a fejfájás, gyakran az emelkedett intracranialis nyomásra vezethetők vissza. Az emelkedett intracranialis nyomás származhat a tumormassza térfoglaló hatásából vagy a peritumorális ödémából, amely akár több centiméteres is lehet. A tumorok a liquorkeringés akadályoztatása révén hydrocephalust is okozhatnak, a személyiségváltozások pedig gyakran a frontális lebenyeket érintő lézióval függenek össze [11].

Az metasztázisok anatómiai elhelyezkedése jelentős mértékben függ az agyi véráramlástól, így a daganatok 80%-a az nagyagyi hemispheriumokban, 15%-a a cerebellumban és 5%-a az agytörzsben alakul ki [11]. A daganatsejtek az agyat az artériás ellátórendszerrel érik el. Az agyi áttétképzésre jellemző, hogy a tumorsejtek a nagy agyi artériák ellátó területének határain, az úgynevezett „vízvázlató” határterületein, sokszor a lebenyek széli régióiban tapadnak meg. A daganatsejtek elsősorban a szürke- és fehérállomány határán képeznek áttétet, ahol az erek kisebb átmérője miatt a daganatembólusok könnyebben akadnak meg [8, 13].

1.3 Az agyi áttétek prognózisa és kezelése

Az agyi áttétben szenvedő daganatos betegek halálát leginkább a központi idegrendszeri progresszió okozza [11]. Éppen ezért kiemelt jelentőségű az agyi áttét helyi kezelése. Válogatott esetekben az áttét műtéti úton való eltávolítása, illetve limitált számú áttét meglétekor sztereotaxiás besugárzás (*stereotaxic radiosurgery* (SRS)) végezhető. A legtöbb betegnél lehetséges a teljes agyi besugárzás (*whole brain radiotherapy* (WBRT)) elvégzése preventív célból vagy multiplex áttét esetén, azonban rossz általános állapotú betegeknél már csak tüneti terápia (dehidráló kezelés, fájdalomcsillapítás) alkalmazható.

Az agyi áttét lokális kezelését, függetlenül annak szervi eredetétől, a *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) irányelvei foglalják össze. Amennyiben disszeminált szisztémás betegségről van szó korlátozott szisztémás kezelési lehetőségek mellett, ott az agyi áttét kezelésére elsősorban a WBRT javasolt, de sajnálatos módon legtöbbször már csak szupportáció (*best supportive care* (BSC)) alkalmazható tüneti terápiaként.

Amennyiben újonnan diagnosztizált malignitásról, stabil szisztémás betegségről van szó, vagy várható a szisztémás kezelés hatásossága (rendelkezésre áll hatékony kemoterápiás szer, vagy molekuláris célzott terápia), úgy reszekálható elváltozás esetén sebészi eltávolítás, majd WBRT vagy SRS a választandó eljárás, esetleg önmagában SRS, vagy SRS WBRT-vel kiegészítve. Nem reszekálható elváltozás esetén WBRT és/vagy SRS a választandó kezelési mód.

Az agyi áttét kezelésének sikere nagyban múlik a primer tumor kezelési lehetőségeitől, illetve annak a terápiára adott válaszából. Még abban az esetben is fontos a szisztémás kemoterápia vagy molekulárisan célzott kezelés alkalmazása, amennyiben a primer tumor helyi kezelésére lehetőség nyílik. Ezek a szisztémás onkoterápiás szerek változatos mértékben képesek a vér-agy gáton átjutni, így központi idegrendszeri hatásuk is különböző.

Aktív onkológiai kezelés nélkül az agyi áttétben szenvedő betegek átlagos túlélése 1 hónap körül mozog [14]. Radioterápiával 5 hónap az átlagos túlélés, ugyanakkor a

betegek 10%-a még egy év múlva is életben van [14]. Agyi áttét radioterápiája – elsősorban WBRT – alkalmazásakor más szerzők 4-6 hónapos túlélést tapasztaltak. Mindemellett válogatott esetekben a túlélés akár 12-24 hónap is lehetett, függően a betegek klinikopatológiai paramétereitől [11]. Sebészi kezelés, agyi metastasectomia esetén a medián túlélés 9-14 hónap volt, ami 3-6 hónappal hosszabb, mint amit radioterápiával el lehetett érni [15]. Fontos kihangsúlyozni, hogy a kisebb agyi léziók kezelhetők sztereotaxiás irradiációval, aminek eredményeképpen a medián túlélés 6-12 hónap; ez a terápiás modalitás csaknem egyenértékű az agyi áttét sebészi eltávolításával [16].

Már 1997-ben igyekeztek prognosztikai indexeket létrehozni az agyi áttéttel rendelkező betegek életkilátásainak és túlélésnek meghatározására. A *Radiation Therapy Oncology Group* (RTOG) fejlesztette ki a *Recursive Partitioning Analysis* (RPA) indexet, ami különböző prognózisú csoportokat definiált agyi irradiáción átesett betegeknél. Az indexet validálták és számos klinikai vizsgálatban felhasználták. Hátránya, hogy a szövettani diagnózist nem specifikálták, továbbá hiányoztak a szisztémás kezelések hatásai. Később létrehozták a *Graded Prognostic Assessment* (GPA) prognosztikai indexet, amely már külön volt alkalmazható az egyes primer tumorok esetén, sőt emlőrákban a Her2 és az ösztrogén receptor státuszt is figyelembe vette. 2012-ben a munkacsoport felújította az indexet. Az új index lényege, hogy bizonyos prognosztikai faktorok elemzésével és összevetésével egy pontrendszert hoznak létre. A pontrendszerrel a különböző paraméterek esetén különböző túlélés figyelhető meg, így ez jól használható a betegek követésénél, onkológiai kezelésük megtervezésénél. Tüdőrákban az életkor, az általános állapot (amit *Karnofsky performance status* (KPS) rendszerrel vizsgáltak), az extracranialis metasztázisok jelenléte és az agyi áttétek száma alapján határozták meg a csoportokat (1. táblázat) [17].

1. táblázat: GPA pontrendszer és annak összefüggése a túléléssel

Prognosztikai faktor	GPA 0	GPA 0,5	GPA 1,0
Életkor (év)	>60	50-60	<50
KPS	<70%	70-80%	90-100%
Extracranialis áttét	Jelen van	-	Nincs jelen
Agyi áttét száma	>3	2-3	1

	GPA 0-1,0	GPA 1,5-2,0	GPA 2,5-3,0	GPA 3,5-4,0
Teljes medián túlélés	3,0 hónap	5,5 hónap	9,4 hónap	14,8 hónap

Az index, bár jól használható a klinikai gyakorlatban, továbbra sem veszi figyelembe azon betegeket, akik nem részesülnek radioterápiában, valamint még mindig nem alkalmas személyre szabott kezelés kivitelezésére. Tüdőrák esetén még számos olyan klinikopatológiai faktort kell számolni, ami szerepet játszhat a túlélésben. Ezen faktorok (mint például nyirokcsomó áttét jelenléte, terápiára adott válasz, stb.) figyelembe vétele tovább növelheti a fenti index prognosztikai értékét.

1.4 Az agyi áttétek és a peritumorális ödéma

Az agyi áttétek vizsgálatánál elengedhetetlenül fontos a peritumorális ödéma jelenlétének meghatározása és pontos méretének megadása, mivel igen gyakran főként ez felel a neurológiai tünetekért, és csökkentése nem ritkán a beteg általános állapotának drámai javulásához vezethet.

Az agydaganatok körül elsősorban vazogén ödéma kialakulására van bizonyíték. A humán agyi metasztázisok és a primer tumorok, mint például a glioblastoma multiforme átlagosan több mint 90 ml ödémafolyadékot termelnek naponta [18]. Az agydaganatok körüli vizenyő kialakulásának mechanizmusa ugyanakkor nem minden ponton ismert.

1.4.1 Az agyi mikrokörnyezet szerepe daganatos folyamatokban

Az agyi speciális miliő fenntartásában és az agy vízforgalmának szabályozásában elsősorban a vér-agy gátat alkotó struktúrák és az aquaporinok vesznek részt, amelyek alapvető funkcióihoz a microglia különleges tulajdonságai adódnak hozzá. Bár egyes vizsgálatok szerint a microglia sejtek szerepet játszanak többek között az agy immunvédekezésében is, azonban a daganatos progresszióban és a peritumorális ödéma kialakulásában játszott szerepükről nincs elegendő adat. Kimutatták ugyanakkor, hogy a COX-2 enzim gátlása, valamint a dexamethason kezelés az agyödéma mérséklése mellett csökkenti a peritumorális aktivált microglia sejtek számát [19].

A vér-agy gát fiziológiás feladata az agyi speciális miliő fenntartása, védelem a kórokozók, toxinok ellen, valamint a neuronok számára az alapvető tápanyagok biztosítása különleges transzportfolyamatok segítségével. A vér-agy gát részeit képezik a nem fenesztrált, tight junction (szoros kapcsolat) típusú sejtadhéziós struktúrával összetartott endothelsejtek rétege, az endothelsejtek bazális membránja, a gliális bazális membrán, valamint az astrocyta gliatálpak által alkotott réteg. Az agyi erek mentén elhelyezkedő vér-agy gát egyik fő funkciója, hogy meggátolja a vízdékony anyagok szabad paracellularis diffúzióját. Ezt a feladatot az endothelsejtek közötti tight junction kapcsolatok révén és az endothelsejtek alacsony pinocitotikus aktivitásának köszönhetően tudja ellátni.

Egyes vizsgálatok szerint a tumor angiogenesis legfontosabb molekulájának, a VEGF-nek (*vascular endothelial growth factor*) is szerepe van a permeabilitás növekedésében, ezáltal az ödémaképzésben a tight junction proteinek down-regulációja vagy foszforilálása révén [18]. A primer agydaganatokkal szemben az agyi metasztázisok esetén kevesebb információ áll rendelkezésre a vér-agy gát és a tight junction molekulák kapcsolatáról. Egyes megfigyelések szerint azon metasztázisokban, amelyek átmérője kisebb mint 0,25 mm, a vér-agy gát a tumoron belül és körül intakt. Ezzel szemben a nagyobb átmérőjű áttéteknél ez a barrier lyukas, ugyanakkor nagyon ellenálló a kemoterápiákkal szemben [20]. A vizsgálatok továbbá arra utalnak, hogy a metasztázisnak már a kezdeti fázisában – amikor még nem károsodott tartósan a vér-agy gát integritása – képesek a tumorsejtek penetrálni a vér-agy határon annak károsítása nélkül [10].

Daganatos folyamatokban az aquaporin (AQP) molekulák közül elsősorban a vízszállító csatorna, az AQP-4 szerepe mutatható ki. Az aquaporin molekulák vizsgálatokor fontos figyelembe venni a lokalizációtól függő különbségeket. Míg a primer idegrendszeri tumorok és metasztázisok által expresszált molekulák szerepet játszhatnak a peritumorális ödéma képződésében, addig a peritumorális térben megjelenő reaktív astrocytákon expresszált AQP-4 molekula feltehetőleg a vazogén ödémafolyadék eltávolításában játszik szerepet. Egyes tanulmányok szerint a magas AQP-1 és AQP-4 expresszió humán astrocytomákban korrelál a peritumorális ödéma mértékével [21] [22]. Meningeomák esetén is hasonló összefüggést tudtak kimutatni a tumor AQP-4 expressziója és a perifocalis ödéma között [23, 24]. Ezen daganattípusban megfigyelték, hogy a VEGF expresszió pozitívan korrelál az AQP-4 expresszióval és a peritumorális ödéma mértékével [24, 25]. Az AQP-4 expressziója nagyon megemelkedik a humán primer malignus agydaganatokban, csökkentve a tumor extracelluláris tér volumenét azáltal, hogy vizet pumpál ki az agy parenchymájába és létrehozza a peritumorális ödémát [18]. Metasztázisok esetén mindeztidáig kevés adat áll rendelkezésre az aquaporinok expressziójáról, illetve annak peritumorális ödémával való összefüggéseiről.

1.4.2 A peritumorális ödéma és az agyi áttét vascularisatiója

A vér-agy gát destrukcióján kívül a peritumorális ödéma kialakulásában fontos elem az áttétek vascularisatiója. A központi idegrendszeri metasztázisok a megtapadás után a meglévő erek mentén terjednek, ezáltal már korai szakaszban vascularizáltak [26, 27]. A 2 mm-nél nagyobb daganatok azonban már rászorulnak az angiogenesis folyamatára a növekedésük biztosításához. Az így képzett erek jelentősen különböznek az agyi erekteől [28]. Egyes tanulmányok szerint az átlagos kisérdenzitás (*microvessel density* (MVD)) a tumorok belsejében és perifériáján korrelációt mutat a tumor agresszivitásával [29]. Ez a megállapítás nem teljesen igaz az agyi áttétekre. Humán colon carcinomában és tüdőrákban a kialakult agyi metasztázisokban nagyméretű dilatált ereket találtak, ugyanakkor az MVD 15-20-szor alacsonyabb volt, mint a körülöttük lévő agyszövet érdenzítése [30]. Metasztázisok esetén igen jellemző az erek fenesztráltsága [31]. Korábban már leírták a VEGF, az aquaporinok, az arachidonsav, valamint a sejtmembránok foszfolipid rétege degenerációjának szerepét a fenesztrációk kialakulásában [32]. Egy vizsgálat szerint az agyi metasztázis melletti keskenyebb ödéma gyakrabban járt alacsony intratumorális kisérdenzitással, ugyanakkor ezek a tumorok nagyobb mértékű infiltrációt mutattak és a már meglévő agyi erek mentén terjedtek. Ezzel szemben voltak áttétek, amelyek a perivascularis térben proliferálni kezdtek, majd a neoangiogenesis folyamatát indították el a HIF α -VEGF útvonalon. Ezen metasztázisokban lyukacsos erek keletkeztek, jelentős mértékű peritumorális ödémát eredményezve [33].

Kimutatható, hogy ahol nagyobb a VEGF expresszió, ott gyorsabb az áttét növekedése [20]. Emellett humán primer agydaganatok és a metasztázisok körüli ödéma is kifejezettebb a VEGF expresszió növekedése során [34]. Ezt az elméletet erősíti az a vizsgálat, melyben kimutatták, hogy a low-grade gliomák high-grade gliomává alakulását mediálhatja a VEGF és receptorának indukciója. A VEGF endothelsejtekre kifejtett mitotikus aktivitása mellett erős permeabilitást növelő hatása is van, ugyanis a folyamatos endothelt fenesztrált endothellé teszi mind a venulák, mind pedig a kapillárisok szintjén [35].

1.5 Agyi áttét tüdőrákban, megjelenésének prediktív faktorai

A tüdőrák diagnosztizálásakor a betegek 10-25%-ánál már megjelent agyi áttét, a betegség lefolyása során pedig összesen 40-50%-ban számíthatunk cerebrális metasztázis kialakulására [8]. Előrehaladott NSCLC esetén 30-50%-ban figyelhető meg agyi érintettség [36], míg SCLC-ben a diagnózis felállításakor 15%-ban, autopsziás anyagban pedig 50-65%-ban mutatnak ki metasztázist [37].

Az irodalmi adatok alapján az agyi áttétek kialakulásának rizikója magasabb előrehaladott stádiumok, nagyméretű primer tumor, illetve lymphovascularis invázió esetén, továbbá hilusi nyirokcsomók érintettsége vagy nagyméretű nyirokcsomó áttét jelenlétekor. Hasonlóképpen gyakrabban számíthatunk agyi metasztázisra nem-laphám szövettani típusú daganatnál, nőknél, fiatal betegeknél, magas szérum LDH és CEA szint jelenlétekor, emellett neoadjuváns kezelésre bekövetkezett komplett remisszió esetén, valamint hosszabb teljes túlélés során [8, 36].

1.6 A tüdőrák patológiája az agyi áttétek vonatkozásában

A prognosztikai faktorok vizsgálatokor említést kell tenni a patogenezisben fontos szerepet játszó faktorokról, fehérjékről, génekről, illetve epigenetikus tényezőkről. Manapság a legtöbb figyelem a génekre és epigenetikus tényezőkre irányul. Számos munkacsoport igyekszik génexpressziós mintázatokat találni, melyek tüdőrák esetében prediktív vagy prognosztikai jelentőséggel bírnak [38]. A DNS és RNS szintű vizsgálatokkal szemben ugyanakkor a fehérjék kimutatása nemritkán jobban tükrözi a sejtek működését in vivo körülmények között. Ráadásul az immunhisztokémiai reakciók általában könnyebben végezhetőek el archivált tumormintákon, ezáltal lehetőség nyílik nagyobb betegpopulációk vizsgálatára. Habár a rutin patológiai diagnosztikában egyre szélesebb körben alkalmaznak molekuláris patológiai módszereket, azonban az immunhisztokémiai vizsgálatok még mindig könnyebben hozzáférhetőek, olcsóbbak, és kevesebb időt vesznek igénybe. Éppen ezért fontos olyan

prognosztikai és prediktív markerek keresése, amelyek a rutin klinikai gyakorlat számára is alkalmazhatóvá válhatnak.

A tüdőrák kialakulásában részt vevő géneket intenzíven vizsgálják, ennek ellenére számos kérdés vár még megválaszolásra a daganatos transzformációhoz vezető génhibákkal kapcsolatban. Adenocarcinoma és laphámrák esetén feltételezik a P53, KRAS (*Kirsten rat sarcoma viral oncogen homolog*), P16, RB, MYC továbbá a β -catenin fehérjét kódoló CTNNB1 gén hibáját [39]. Neuroendocrin daganatos transzformáció korai szakaszában szerepet játszhat az RB, P53 és MYC gén is, de az SCLC marker ASH1 is [40, 41]. Ezen génhibák felelősek lehetnek a malignus transzformációért, ugyanakkor terápiás lehetőségeket hordozhatnak. Tüdőrákban a legismertebb és a klinikai gyakorlat számára legfontosabb molekuláris prediktív markerek az adenocarcinomákban kialakuló EGFR (*epidermal growth factor receptor*) vagy KRAS génmutáció, illetve az ALK gén transzlokációja. Míg tüdő adenocarcinomákban az EGFR mutáció és az ALK transzlokáció pozitív prediktív értékkel bír, addig a KRAS génmutáció negatív prediktív értékű az EGFR gátló kezelésekre vonatkozóan.

Az agyi áttétek kialakulásának kockázatára vonatkozó prediktív faktorok közül D'Amico és munkatársai p53 és urokináz plazminogén aktivátor magasabb expressziója esetén találtak magasabb agyi áttét rizikót [42]. Li és munkatársai 161 NSCLC beteg vérmintáját vizsgálták, és 13 TGF- β szignáltranszdukciós útvonal génjei között találtak 33 SNP-t (*single nucleotide polymorphism*), melyek gyakrabban társultak központi idegrendszeri metasztázis kifejlődésével. Eredményeik szerint a SMAD6 és az INHBC gének meghatározott polimorfizmusai magasabb agyi áttét rizikóval jártak [43]. Egy másik tanulmányban a PI3K-PTEN-AKT-mTOR útvonal génjeinek polimorfizmusát mutatták ki, mint az NSCLC-ben az agyi metasztázis kialakulásának rizikóját fokozó tényezőt [44].

Primer tüdőrákban kedvező prognosztikai faktornak tartják NSCLC-ben a tumor euploiditást, a Bcl-2 fehérje expressziót, az A típusú vércsoport antigén expresszióját, továbbá adenocarcinomák esetén a TTF-1 expressziót [45, 46]. Kedvezőtlen prognosztikai faktor a magas kisérdenzitás, a KRAS mutáció, a P53 mutáció, valamint a Ki-67, c-erbB2/her2, EGFR, p21, N-CAM, c-MET, COX-2 (cyclooxygenase-2) és az

ösztrogén receptor expresszió [47]. Singhal és munkatársai összefoglalták azon molekuláris markereket és fehérjéket, amelyek prognosztikai jelentőséggel bírhatnak korai stádiumú NSCLC-ben [48]. Elsősorban azon molekulákat vizsgálták, amelyek elsődleges szerepet játszanak a három legfőbb szignáltranszdukciós útvonalban, a sejtciklus szabályozásban, az apoptózisban és az angiogenesisben. Ezek alapján a betegek prognózisa leginkább a cyclin E, cyclin B1, p27, p16, survinin, kollagén XVIII és a VEGF expressziótól függött. Számos széleskörű vizsgálat ellenére azonban eddig csak nagyon kevés biomarkerről bizonyosodott be, hogy a klinikai gyakorlatban is prognosztikai jelentőséggel bír, ilyen például az EGFR exon 19 deléció mutáció [49].

Tüdőrákban a terápia szempontjából legnagyobb jelentőségű génhibák az adenocarcinómában megfigyelhető EGFR és KRAS mutáció, valamint az ALK gén transzlokációja. Doebele és munkatársai terápia naiv nem-laphám típusú, 209 NSCLC beteget hasonlítottak össze metasztatizálási mintázat szerint. A molekuláris mintázat szerinti alcsoportok az alábbiak voltak: EGFR mutáció pozitív, KRAS mutáció pozitív, ALK transzlokáció pozitív, illetve mindhárom génhibára nézve negatív daganatok. Eredményeik alapján a legtöbb szerv érintettségét ALK transzlokáció esetén találták. Emellett a pericardialis, a pleuralis és májáttét ugyancsak gyakoribb volt ALK pozitivitás esetén a tripla negatív tumorokkal szemben. Hasonlóképpen magasabb volt a májáttétek aránya EGFR mutáció esetén a mutáció nélküli esetekkel összehasonlítva. Az agyi áttétek tekintetében nem találtak különbséget az egyes genetikai eltérések között, valamint nem volt különbség a mutáció pozitív és a tripla negatív esetek között [50].

1.6.1 EGFR mutáció és agyi áttétképzés

Az EGFR az epidermális növekedési faktor tirozin-kináz receptora, amelynek feladata a növekedési faktorok megkötése és az információ továbbítása a jelátviteli utakra. Ez az információ legtöbb esetben a sejt proliferációjához, a sejtmigráció fokozásához, valamint az áttétképződés elősegítéséhez vezet. Az EGFR mutációja tüdőrák sejtekben a receptor kináz domain területén következik be, és „driver” (irányító) mutációt jelent. A driver mutáció a daganatos transzformáció létrejöttében vezető szerepet játszik, így a daganatsejtek többségére jellemző egy adott tumorban. Az EGFR mutáció elsősorban az adenocarcinómákban gyakori, legfőképp a nemdohányzó nőknél. Szövetteni szempontból a nem-mucinosus, lepidikus növekedési formát mutató, illetve az acinaris

és a papillaris morfológiai altípusú adenocarcinomák esetén kell a leginkább EGFR mutációval számolni [51]. Az ázsiai populációban aránya akár 47% is lehet, míg az európai népességben aránya 15% [52]. Munkacsoportunk elsőként vizsgálta az EGFR mutáció gyakoriságát a magyar népesség körében, és a mutáció megjelenését 14%-ban határozta meg [53]. Az EGFR mutáció pozitív esetek általában jobb prognózissal párosultak. A leggyakoribbak a „klasszikus” mutációk, így az EGFR 19-es exon deléciója és a 21-es exon L858R pontmutációja [53, 54]. Ezen géneltérések meglétekor az EGFR receptor tirozin-kináz régióján jó hatásfokkal alkalmazhatók a reverzibilis EGFR tirozin-kináz receptor gátló gefitinib, erlotinib és az irreverzibilis afatinib. Az általában 9-13 hónapon át tartó kedvező terápiás hatást követően, sajnálatos módon, a betegek többségénél daganatos progresszió lép fel, aminek hátterében EGFR rezisztencia mutációk – például T790M pontmutáció – megjelenése áll. Ilyenkor a rezisztencia mutációra is ható EGFR-TKI osimertinib alkalmazandó. Tüdő adenocarcinomákban ritka EGFR mutációk is kimutathatók, amelyek gyakoriságát és terápiás prediktív értékét ugyancsak elemezte munkacsoportunk [53]. Vizsgálataink szerint a ritka mutációk elsősorban dohányosokra voltak jellemzőek, rövidebb túlélés volt megfigyelhető és mérsékeltebb volt az EGFR-TKI terápiára adott válasz is [53].

Az EGFR mutáció jelentőségét agyi áttétekben számos vizsgálatban tanulmányozták, és ez a kérdés előtérbe került az EGFR-TKI terápia agyi metasztázisokra gyakorolt hatásával kapcsolatban is. Az agyi áttétekben az EGFR mutáció gyakoriságát kelet-ázsiai tanulmányok 44-63%-ra teszik, hasonlóképpen ahhoz, hogy a primer tumorokban is magas az EGFR mutáció gyakorisága ebben a populációban. Kaukázusi népesség körében csak néhány vizsgálat tesz említést az agyi áttétek EGFR mutációs gyakoriságáról. Ezekben a tanulmányokban csak 0-2% közötti incidenciát találtak, amely alacsonyabb a primer tumorok 10-15%-os incidenciájához képest [51]. Más vizsgálatban az agyi áttétekben gyakoribb előfordulást találtak, mint a hozzá tartozó primer tumorban [55]. Szoliter agyi áttét elsősorban az EGFR vad típusra, míg a leptomeningealis áttétek az EGFR mutáns daganatokra voltak jellemzők [56]. Heon és munkatársai szerint a központi idegrendszeri progresszió a mutáció altípusától függ. Kimutatták, hogy EGFR exon 19 deléció esetén gyakrabban alakultak ki agyi áttétek az L858R pontmutációval szemben [57]. Sekine és munkatársai az agyi áttétek radiomorphologiai jegyeit vizsgálták meg a mutációk függvényében. Eredményeik

szerint exon 19 deléció esetén több, kisebb méretű, keskenyebb peritumorális ödémával rendelkező áttét volt kimutatható, amelyek leginkább az igen ritka, miliaris megjelenésű metasztázisokhoz hasonlítottak [58]. Egy szelektált betegeket vizsgáló tanulmányban az EGFR tirozin-kináz gátlókra adott terápiás válasz központi idegrendszeri érintettség esetén 70-89% volt [51].

1.6.2 KRAS mutáció és agyi áttétképzés

Az EGFR-KRAS jelátviteli rendszer tüdőrák szempontjából másik fontos tagja a KRAS. Az általa termelt fehérje az EGFR tirozin-kináz receptor által közvetített növekedési faktor mediálta szignáltranszdukciós útvonal down-stream eleme, ezáltal az EGFR aktiváló mutáció és a KRAS gén mutációja általában egymást kizárja. A KRAS onkogén mutációját számos tumorban vizsgálták, és több esetben prognosztikai szereppel bír; így például colorectalis és pancreas carcinomákban [59]. Kaukázusi betegeknél a KRAS mutáció gyakorisága tüdő adenocarcinómában közel 30%-nak bizonyult. A tanulmányok többsége tüdőrák esetén a KRAS mutációt rossz prognosztikai faktornak tartja, de ezzel ellentétes eredmények is napvilágot láttak [60]. Munkacsoportunk egy vizsgálatban a KRAS mutáció prediktív értékét vizsgálta előrehaladott adenocarcinómában szenvedő betegek platinabázisú kemoterápiára adott válasza függvényében. A vizsgálat során külön hangsúlyt fektettünk a 12-es és 13-as kodonon bekövetkező KRAS mutációk alcsoport elemzésére, valamint a 12-es kodon mutációk altípusaira. Összességében a KRAS mutáció nem befolyásolta a túlélést vagy a kemoterápiás választ, azonban a 12 kodon G12V mutáció altípus gyakrabban volt kimutatható nemdohányzóknál, kedvezőbb kemoterápiás választ mutatott, és jelenléte esetén hosszabb volt a teljes túlélés is [59].

1.6.3 ALK gén transzlokáció és agyi áttétképzés

A tüdőrák esetén a harmadik leggyakoribb molekuláris eltérés az ALK (*anaplastikus lymphoma kináz*) gén transzlokációja és fúziója az EML4 (*echinoderm microtubule-associated protein-like 4*) gén amino-terminális részletéhez. Az EML4-ALK fúziós gén létrejöttének eredményeként az állandó aktivációba kerülő sejtproliferációs kaszkád miatt ezen daganatok nemritkán agresszívebb fenotípussal és magasabb recidíva aránnyal rendelkeznek [61]. Az ALK transzlokáció az NSCLC esetek 2-8%-ában

jelenik meg. Az ALK pozitív tüdőrákok gyakrabban kerülnek előrehaladott stádiumban felfedezésre, többször járnak multiplex távoli áttétekkel, mint a többi NSCLC tumor [50, 61]. Az ALK transzlokáció pozitív esetekben indikált tirozin-kináz receptor blokkoló gyógyszerek közül elsőként a crizotinibet alkalmazták, az újabb generációs szerek közül kiemelendő a ceritinib, az alectinib, a lorlatinib és a brigatinib. Ezen kezelések hatására akár egyéves progressziómentes túlélés is megfigyelhető, és jelentős teljes túlélési előnyt is el lehet érni a hagyományos kemoterápiával szemben [62].

Az ALK transzlokációval rendelkező betegek 15-35%-ában már diagnóziskor agyi áttét mutatható ki. Egyes tanulmányok szerint elsővonalbeli, célzott crizotinib kezelés vagy kemoterápia alkalmazása során az agyi áttét incidenciája 60%-ra nőtt [61, 62], amit magyarázhat a crizotinib alacsony központi idegrendszeri penetrációja is [50, 63]. Johung és munkatársai vizsgáltak 90 beteget, akik agyi áttétet adott, ALK transzlokáció pozitív tüdőrákban szenvedtek. Eredményeik szerint a betegek 30%-ánál már a tüdőrák felfedezésekor agyi áttét volt kimutatható, a betegek több mint felénél négynél is több áttéti góccal. Az agyi áttét megjelenésekor 69%-ban más szervekben is volt már távoli metasztázis. Ennek ellenére a betegek medián teljes túlélése 49,5 hónap volt. Azon betegeknél volt megfigyelhető jobb prognózis, akiknek nem volt extracranialis áttétük, jó volt a performance státuszuk és nem részesültek az agyi áttét megjelenése előtt célzott terápiában [63].

1.7 Biomarkerek az agyi áttétekben

Az agyi áttétképzésben fontos szerepet játszó molekulákat és azok működését számos tanulmány igyekezett meghatározni. Emellett több vizsgálat foglalkozott daganat-párok (primer tüdőrák és annak agyi áttéte) elemzésével. Munkacsoportunk korábbi vizsgálatában immunhisztokémiai reakciók segítségével mutattuk ki különböző fehérjék expresszióját primer nem-kissejtes tüdőrák és a hozzá tartozó agyi áttétek, valamint agyi áttétet nem adó nem-kissejtes tüdőrákok szövetmintáiban. Az általunk vizsgált szöveti markerek elsősorban a sejtdifferenciációban, sejtproliferációban, DNS replikációban, sejtciklus szabályozásában, apoptózisban és sejtadhézióban játszanak fontos szerepet. Klaszter analízissel bizonyítottuk, hogy az agyi áttétképző tulajdonság elsősorban az emelkedett cyclin D1, cyclin D3, p16, syndecan-1, p53, caspase-3, caspase-9, CD44v6 és kollagén XVII expressziót és a csökkent β -catenin és cellular apoptosis susceptibility protein (CAS) expressziót mutató tumorokban a legerősebb. A vizsgált markerek közül a betegek túlélésében prognosztikai jelentőségűnek azonban csak a β -catenin bizonyult; csökkent membrán expressziója rövidebb túléléssel járt [47]. Ehhez a vizsgálatához hasonló tanulmányt publikáltak nemrég Rau és munkatársai, akik 49 betegnél elemezték az EGFR és KRAS mutációk megjelenését tüdő adenocarcinómák primer és agyi áttéti tumormintáiban. Eredményeik alapján a betegek 26%-ában volt különböző a primer tumor és a metasztázis genotípusa, melyek közül elsősorban a KRAS mutáció esetén volt diszkordancia megfigyelhető. Több esetben volt az agyi áttét KRAS mutációja kimutatható, miközben a primer tumor KRAS vad típus volt [64]. Munkacsoportunk az egyik tanulmányában 67 primer tüdő ADC-ben és 67 agyi áttétben vizsgálta az mTOR fehérjét [65]. 15 beteg esetében volt lehetőség primer tumor – agyi áttét mintapárokat is elemezni, és ennek kapcsán elsőként írtuk le, hogy agyi áttétben emelkedik az mTORC1/C2 expressziós szintje. Saját tapasztalatunk mellett az irodalmi adatok is arra utalnak, hogy a primer tumor, valamint a hozzá tartozó agyi áttét szöveti blokkjainak vizsgálata meglehetősen nehéz, aminek legfőbb oka az, hogy az ilyen típusú vizsgálatok rendkívül kis esetszámmal rendelkeznek.

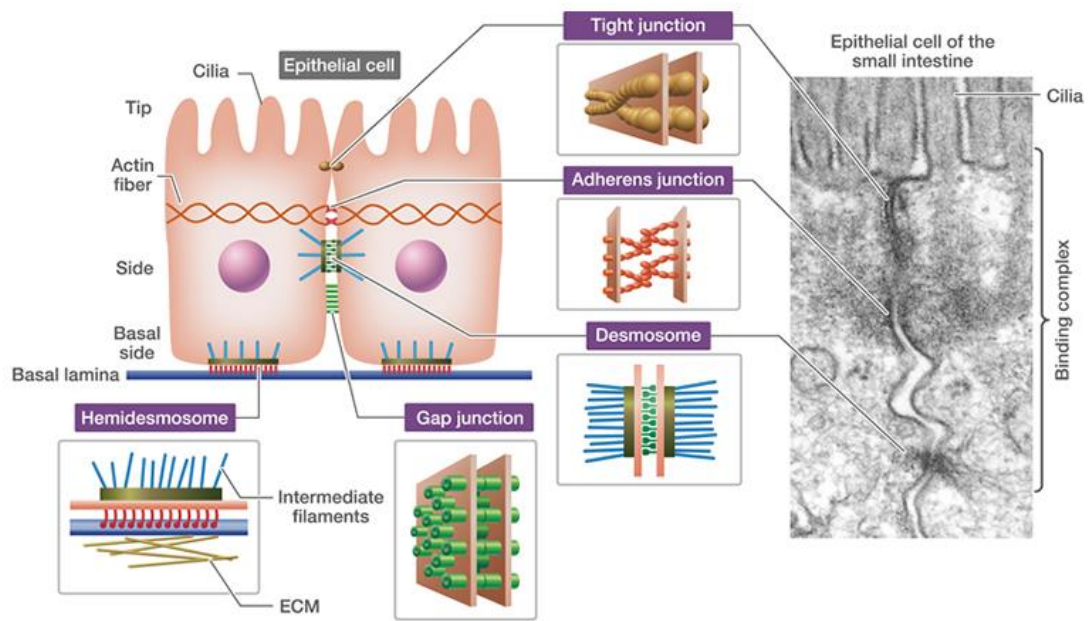
Az agyi áttétek szöveti biomarkereinek tanulmányozásához megfelelő méretű és minőségű szövetminta szükséges. Tüdőrákos betegben agyi biopsziára viszonylag ritkán kerül sor, mivel a primer tüdőtumorból vagy annak nyirokcsomó áttétéből legtöbbször

könnyebben történhet mintavétel, vagy mert az agyi áttét teljes eltávolítása indokolt a tünetek enyhítése érdekében. Éppen ezért értékesek a nagy betegcsoportokat vizsgáló, agyi metastasectomiás szövetmintákat analizáló tanulmányok. Munkacsoportunk 2017-ben publikálta 208 tüdő adenocarcinomás beteg agyi áttétének szövetmintáján végzett biomarker expressziós vizsgálatának eredményeit [66]. Ezen betegek nem részesültek immunterápiában. A munka során PD-1 és PD-L1 expressziót elemeztünk, amely markereket összevetettünk különböző klinikopatológiai jellemzőkkel, a tumor-infiltráló mononuclearis sejtek számával, valamint a tumort körülvevő immunsejtek számával. Eredményeink azt mutatják, hogy az immunsejtek nagyobb száma az agyi áttétben belül, illetve a tumor körül, különösen amennyiben ez alacsony tumorsejt PD-L1 expresszióval párosul, hosszabb – agyi áttét műtététől számított – túléléssel jár, ami az immunrendszernek a tumor növekedésében játszott szignifikáns kontrolláló szerepére utalhat.

1.7.1 A sejtadhézió szerepe az agyi áttétképzésben

1.7.1.1 Az epithelialis sejtek adhéziója

Az epithel sejteket több sejt kapcsoló struktúra kapcsolja össze egymással és az extracelluláris mátrixszal, normális viszonyok esetén a bazális membránnal. A sejt kapcsoló struktúrák segítségével a sejtek szabályozott módon szabnak gátat bizonyos molekulák mozgásának. Ezenkívül kapu funkciót is ellátnak, és segítenek fenntartani a sejt polaritását, környezeti kapcsolatait, továbbá fontos állomásai a környezeti és a szomszédos sejteken keresztül érkező üzeneteknek. A sejt-sejt kapcsolódás fontos struktúrái közé tartozik a tight junction (zonula occludens), az adherens junctio (zonula adherens), a dezmoszóma (macula adherens), a gap junction; míg a bazális membrán esetén hemidezmoszómával kapcsolódnak a sejtek (2. ábra).



© CSLS/The University of Tokyo

2. ábra A sejt adhézió normál epithelialis sejtekben (forrás:http://csls-text3.c.u-tokyo.ac.jp/large_fig/fig11_11a.html)

A szoros kapcsolatnak, a tight junctionnak hagyományosan két fő feladata ismert. Gátat szab a molekulák sejtek közötti áramlásának, valamint megakadályozza a membrán alkotóelemeinek keveredését, így megtartja a sejt polaritását [67]. Az epithel sejtek, így a bronchialis, valamint alveolaris hámsejtek közötti tight junction típusú kapcsolatok elsőként felfedezett transzmembrán fehérjéje az occludin volt, amelynek fiziológiás és patológiás szerepe még mind a mai napig nem pontosan meghatározott [68, 69]. A tight junction transzmembrán fehérjék másik csoportjába a claudinok családja tartozik, amelyeknek ezidáig 24 tagját sikerült igazolni különböző szövetekben [70]. Az immunglobulin családba tartozó sejtadhéziós molekulák közé tartozó JAM-A is fontos tagjai a szoros kapcsolatnak [71]. Újabbban kerültek előtérbe a tight junctiont felépítő tricellulin és a marvelD3 fehérjék is. A tight junction transzmembrán fehérjék citoszkeletonhoz való rögzítését a zonula occludens fehérjék (ZO-1, ZO-2, ZO-3) biztosítják [72].

Daganatos transzformáció esetén mind a gát funkció, mind a polaritás megszűnése jelentőséggel bír [67]. A primer agytumörök vagy az agyi áttétek körül kialakuló ödéma

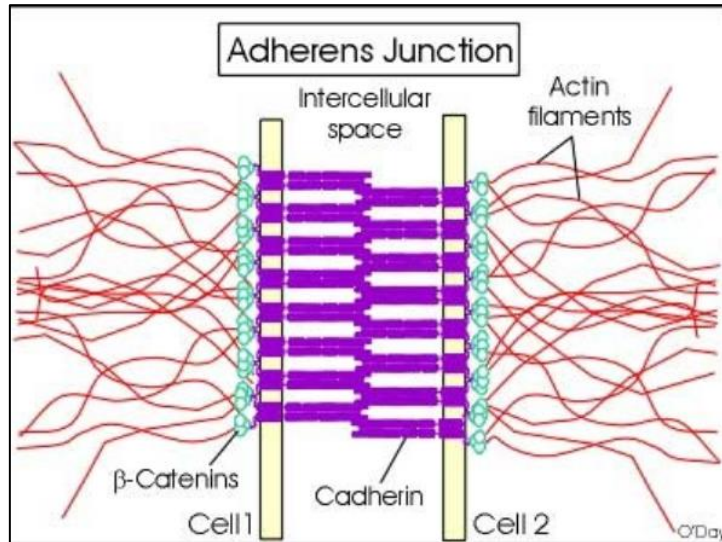
kifejlődésében a kutatók szerint fontos szerepe van a vér-agy gát károsodásának, ezzel együtt az agyi endothel sejtek közötti tight junction fehérjék funkcióvesztésének [18, 68, 73-76]. A sejtek polaritásának és a sejt-sejt közötti kapcsolatnak az elvesztése ugyancsak ismert a malignus daganat kialakulásában, azonban újabban a tight junction egyéb szerepét is feltételezik a daganatos transzformációban [77]. Feltételezések szerint a ZO-1 és ZO-2 fehérjék a proliferáció szabályozásában is részt vehetnek. A daganatsejtek motilitásának és invazivitásának feltétele az epithelialis-mesenchymalis transzformáció (EMT). Az epithel sejtek jól polarizált, kifejezett sejtkapcsoló struktúrákkal rendelkező, alacsony motilitású sejtek. Az epithelialis tumorsejteknek azonban az invazivitás eléréséhez, a motilissá váláshoz a sejtkapcsoló struktúrákat meg kell változtatniuk, ezáltal elveszítik polarizáltságukat. Az invazivitás és motilitás érdekében a sejtek mesenchymalis sejtekre jellemző molekulákat kezdenek expresszálni, így tehát elsősorban kötőszöveti sejtekhez hasonló morfológiát vesznek fel. Ezen folyamat TGF- β által mediált, és jelentősen megváltoztatja a tight junctiont. Sejtkultúrában TGF- β kezelés hatására EMT következett be, ezzel együtt elveszett a claudin-1,-2, occludin és a zonula adherens tagjaként ismert E-cadherin fehérje expressziója [77]. Ugyancsak igazolódott, hogy a tricellulin és a marvelD3 fehérje expressziója is csökken gyomor és pancreas carcinoma sejtek EMT átalakulása során [77]. A daganatos transzformációban és az áttétképzésben való részvételre számos tight junction elem esetében találtak bizonyítékot. Az occludin összefüggésben volt mind a Raf-1, mind pedig a Ras szignáltranszdukciós úttal is, expressziójának csökkenése kapcsolatban állt ezen jelátviteli utak daganatos transzformációt elősegítő szerepével [77]. A claudinok daganatos transzformációban betöltött szerepe ellentmondásos. Emelkedett claudin-1 expresszió volt kimutatható primer colon carcinomában és annak metasztázisaiban [78]. Ezzel szemben Chao és munkatársai vizsgálatában a claudin-1 pozitivitás kedvezőbb túlélési eredményekkel járt tüdő adenocarcinomában [79]. Invazív pancreas carcinoma sejtkultúrájában a claudin-4 overexpresszió csökkentette a sejtek invazivitását és túlélését, ezzel szemben állatkísérletes modellben csökkentette a tüdőáttétek számát [80]. Ovárium carcinomában a claudin-3 és -4 expressziója emelkedett [81]. Emlő ductalis carcinomában és ductalis carcinoma in situ eseteiben a claudin-7 expresszió negatívan korrelált a daganatok grádusával [82]. Colorectalis carcinomában és gyulladással asszociált vastagbél carcinomákban a

claudin-2 expressziója emelkedett volt, valamint kimutatták, hogy a korábban claudin-2 expressziót nem mutató sejtekben a megjelenő claudin-2 fehérje növelte a sejtproliferációt, és a tumor volumenének növekedéséhez vezetett in vivo [83].

Munkacsoportunk elsőként tanulmányozta és publikálta a tüdőrákok claudin expresszióját [84]. 104 primer tüdőrák (46 adenocarcinoma, 30 laphámrák, 15 kissejtes tüdőrák és 13 carcinoid) paraffinos szövettani mintáit tanulmányoztuk. 22 szövettanilag reprezentatív mintából RT-PCR vizsgálat is történt. A normál bronchus hámsejtek valamennyi vizsgált claudint expresszálták. Az SCLC és a carcinoid összehasonlításakor jelentős különbséget észleltünk a claudin-1,-3 és -4 expresszióban. ADC és SCC esetében szignifikáns különbség volt megfigyelhető a claudin-3,-4 és -7 expresszióban. Ezzel szemben az ADC és az SCLC között csak a claudin-2 expresszióban találtunk szignifikáns különbséget. Az ADC és a carcinoid szignifikáns különbséget mutatott a claudin-1,-3 és -4 expresszióban. Az RT-PCR analízis a különböző claudinok mRNS és protein expressziójának párhuzamos változását igazolta. Eredményeink arra utalnak, hogy a tüdőrák szövettani altípusok között megfigyelt jelentős claudin expressziós különbségeknek – főként az SCLC és az NSCLC, illetve az SCLC és a carcinoid közti eltéréseknek – differenciál-diagnosztikai jelentősége lehet, az egyes claudinok overexpressziója pedig terápiás lehetőséggel bírhat. Egy másik, nemrég publikált munkánk során a claudin expresszió prognosztikai jelentőségét vizsgáltuk tüdő laphámrákban és adenocarcinomák szövettani altípusaiban [85]. Eredményeink alapján a claudin mintázatra vonatkozóan különbséget lehet tenni invazív adenocarcinoma és lepidikus terjedést mutató adenocarcinoma között, továbbá kifejezett expressziós különbség mutatható ki ADC és SCC között is. Jellemeztük ezen alcsoportokban a claudin fehérjék expressziójának egymástól való függését is, és ezek alapján szövettani altípusonként eltérő claudin expressziós mintázat jelenléte volt igazolható. Prognosztikai szempontból csak a claudin-1 overexpresszió mutatott túlélési előnyt, de ez is csak laphámrákok esetében volt prognosztikus értékű.

A tight junction molekulák tüdőrák agyi áttéteiben mutatott expressziójáról kevés információ szerepel a szakirodalomban. Az agyi áttétek körül kialakuló ödéma és a tight junction fehérje expresszió vonatkozásában már több adat található, azonban tüdőrákkal kapcsolatban még kevés vizsgálati eredményt publikáltak.

A zonula adherens és a daganatképződés közötti kapcsolat vizsgálata ugyancsak fontos kérdés (3. ábra).



3. ábra Zonula adherens forrás: <https://prezi.com/zyhfo4lljre-/cell-junctions/>

Ezen sejtkapcsoló struktúra elemei a szerv- és szövetfüggő cadherineknél, melyeket a sejt aktin filamentumaihoz a β -catenin horgonyoz le. Az adherens junctio zipzár-szerűen köti össze a szomszédos sejteket. Mivel a sejt aktin filamentumaihoz kapcsolódik, feltételezik, hogy az epithelialis sejtek morfogenezisében van szerepe, például ductusok képzésében.

Munkacsoportunk vizsgálata szerint az agyi áttétképzés során elveszített β -catenin expresszió prognosztikai értékkel bír [47]. Fontos megemlíteni, hogy β -catenin expresszió jelenléte a primer tumorban ebben az esetben jelentőséggel bír, hiszen egyes vizsgálatok szerint a tüdőben a carcinogenesis során eleve csökken az expressziója. Kimutatták, hogy expressziója csökken a dysplasiák és az atípiával rendelkező laphám metaplasiák területén, sőt a β -catenin csökkenését mutatták ki adenocarcinoma és atípusos adenomatosus hyperplasia eseteiben is [47]. A β -catenin a sejt homeosztázisában fontos molekula, mely egyaránt szerepel transzkripció kofaktoraként, valamint sejtdhéziós fehérjeként. Magas expressziója számos betegségben, így malignus daganatokban is kimutatható. A β -catenin fő regulátora a Wnt, mely fontos

transzkripciós faktor. Wnt ligandok hiányában a β -catenin a sejtmembránban helyezkedik el, Wnt aktiváció során azonban a sejtmagba transzlokálódik és számos kofaktorral együtt segíti a Jun, c-Myc és Cyclin D1 transzkripcióját, melyek proliferációt elősegítő onkogének. A citoplazmában és magban akkumulálódó β -catenin elősegítette a sejtproliferációt néhány daganattípusban (melanoma malignum, colon carcinoma, emlőrák, máj adenocarcinoma, leukaemia) [86]. A normál epithelialis sejtekben a β -catenin funkcionális partnere, az E-cadherin, aminek expressziója csökken NSCLC esetén, és ez irodalmi adatok szerint ugyancsak rossz prognózissal jár [87-89]. Saját munkánk során mi is az E-cadherin csökkent expresszióját észleltük agyi metasztázisokban a primer tüdő tumorhoz képest, azonban ez a különbség nem volt szignifikáns és nem volt prognosztikai jelentőségű [47].

A dezmoszóma és a gap junction tüdőrák agyi áttéteiben való kapcsolatáról kevés információ áll rendelkezésünkre.

Munkacsoportunk vizsgálata alapján a hemidezmoszóma tagjaként ismert kollagén XVII magasabb expressziót mutatott az agyi áttétet adó tüdőrák primer tumorában és hozzá tartozó agyi áttétében is [47]. A hemidezmoszóma feladata az epithelialis sejtek intermedier filamentumain keresztül a basalis membránhoz való kapcsolódás kialakítása. Ennek alapelemei az integrin $\alpha 6 \beta 4$, plectin 1a (P1a), tetraspanin CD151, bullous pemphigoid antigen (BPAG)1 E izoformája (BPAG1e, BP230), és a BPAG2 (más néven BP180 vagy XVII-es típusú kollagén) [90]. A kollagén XVII hiánya esetén felbomlik az epithelialis adhezió, ami számos öröklött és szerzett bőrbetegség hátterében áll [91]. A XVII-es kollagén folyamatosan lehasad a kapcsoló molekulákról, mely körfolyamat egyes adatok szerint finoman szabályozott módon szerepet játszik a sejtek differenciációjában, proliferációjában és a re-epithelialisatio folyamatában [91]. Ezek alapján feltételezhető a szerepe a daganatképződés korai szakaszában és a metasztázisképzésben. Néhány vizsgálatban, korábbi eredményeinkkel összhangban, tüdő laphámrákban emelkedett volt a molekula expressziója [47].

A CD44 (P-glycoprotein-1) egy multifunkcionális transzmembrán sejt felszíni receptor, amelynek szerepe van a sejt-sejt és a sejt-extracelluláris mátrix adhézióban, sejtmigrációban, sejt „homing”-ban. A ligandjai közé tartozik a hyaluronsav, az osteopontin, egyes kollagének és mátrix metalloproteázok. Emellett bizonyos őssejtek

jellemző markere [92]. Az egyes izoformákat összefüggésbe hozták a daganatos progresszióval, a metasztázálással és a daganat prognózisával [92]. Korábbi munkánk során a CD44v6 expresszió növekedését találtuk agyi áttétekben, ami összefüggésben lehet a daganat agresszivitásával és a metasztázisképzéssel [47]. Expressziója az agyi áttétet adó tüdőrákok esetén emelkedett volt. Ezen eredményünkkel összhangban áll az a megfigyelés, miszerint colon adenocarcinómában a betegek szérumában a solubilis CD44 emelkedése távoli áttétek kialakulásával járt együtt [92].

A syndecan-1 (CD138) egy multifunkcionális transzmembrán heparán-szulfát proteoglikán, ami szabályozza a sejtek kitapadását, a sejtek kommunikációját és a citoszkeleton organizációját. Részt vesz a sejtek proliferációjában, migrációjában és a sejt-extracelluláris mátrix interakciókban, mivel számos extracelluláris mátrix protein receptora [93]. A syndecan-1 a nem-kissejtes tüdőrákok 90%-ában kimutatható és a korai tüdőrák detektálásban lehet szerepe [94, 95]. Prognosztikai szerepe ellentmondásosnak tűnik. Munkánk során mi a syndecan-1 expressziójának növekedését észleltük tüdőrákok agyi áttéteiben [47].

1.7.2 A sejtproliferáció markerei

A megnövekedett proliferációs aktivitás általánosságban rossz prognosztikai tényezőnek tartható. Saját vizsgálatunkban tüdőrákban a proliferáció széles körben alkalmazott markerének, a Ki-67-nek az expressziója magas volt, de nem volt különbség sem az agyi áttétet adó vagy nem adó primer tüdőrákok, sem pedig az agyi áttétek között [47]. Berghoff és munkatársai megvizsgálták 230 operált agyi áttéttel rendelkező tüdő nem-kissejtes carcinomás beteg agyi áttétének, valamint 53 beteg agyi áttétének és primer tüdőtumorának Ki-67 expresszióját [96]. Eredményeik alapján az átlagos Ki-67 index közel 40% volt, és magasabb volt laphámrák esetén. Nem különbözött viszont a primer tumor és a metasztázis között. Az agyi áttét megjelenéséig eltelt idő nem különbözött a Ki-67 index tekintetében, azonban az alacsonyabb Ki-67 expresszió hosszabb teljes túléléssel párosult és független prognosztikai faktornak bizonyult.

2. Célkitűzések

Magyarországon a tüdőrák különösen fontos klinikai és kutatási terület, hiszen a leggyakoribb daganatos halálok, továbbá hazánk vezet az Európai Unióban a tüdőrák halálozási statisztikát. Ennek ellenére napjainkig kevés, nagyobb esetszámú vizsgálatot végeztek agyi áttétet adó tüdőrákos betegek bevonásával. Munkánk során elsődleges célunk volt létrehozni olyan vizsgálati kohorszokat, amelyek reprezentálhatják az agyi áttétet adó tüdőrákban szenvedő hazai betegek főbb klinikopatológiai jellemzőit.

1. Vizsgálni kívántuk nagy betegszámú kohorszban az agyi áttéttel rendelkező betegek daganatának szövettani altípusait, valamint ennek összefüggéseit a primer tumor és agyi áttét lokalizációjával. Hasonlóképpen vizsgálni kívántuk ezen tényezők befolyását a teljes-, illetve az agyi áttét megjelenésétől számított túlélésre.
2. Jellemezni kívántuk az agyba korán, illetve későn metasztatizáló tumorok klinikopatológiai tulajdonságait, ezek viszonyát a szövettani altípusokhoz és az áttétek klinikopatológiai tényezőihez, különös tekintettel az agyi áttét körül kialakuló ödémára.
3. Az agyi áttét körül kialakuló peritumorális ödéma prognosztikai jelentőségét tüdőrák esetében még nem vizsgálták. Munkánk során célunk volt ennek meghatározása ezen betegpopulációban.
4. A tüdőrák legújabb WHO patológiai beosztásában az adenocarcinoma és a laphámrák elkülönítése még hangsúlyosabbá vált, így fontosnak láttuk ezen két szövettani altípus biomarker expressziójának elkülönítését. Munkánk következő fázisában a sejtdhézisban, a sejtdifferenciációban, a sejtproliferációban, a DNS repair-ben és az apoptózisban részt vevő főbb molekulák expresszióját vizsgáltuk ebben a két szövettani altípusban és agyi áttéteiben, kiegészítve mindezeket a peritumorális ödémára és a túlélésre vonatkozó eredmények tanulmányozásával.
5. Adenocarcinomák relatíve homogén csoportjában vizsgáltuk távoli szervi áttétek, többek között agyi áttét, megjelenésének gyakoriságát összefüggésben a daganat KRAS mutációs státuszával. Ugyanezen adenocarcinomás

betegcsoportban tanulmányoztuk a KRAS mutáció prognosztikai szerepét agyi áttéttel bíró betegeknél.

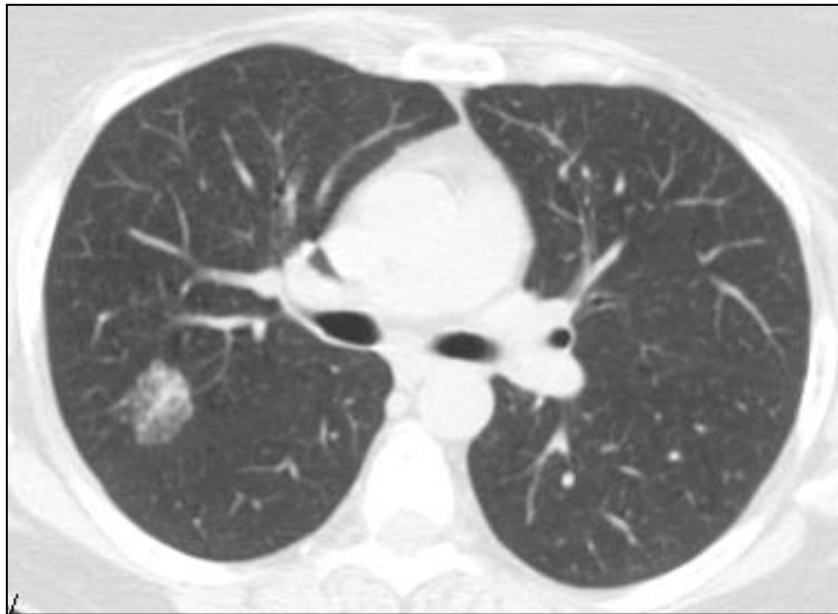
Összességében vizsgálataink célja olyan szöveti biomarkerek azonosítása volt, amelyek elősegíthetik a tüdőrákos betegek közül kiválasztani azokat, akiknél az agyi áttét megjelenésének kockázata növekszik, és esetleg annak időbeli dinamikáját is előre tudjuk jelezni (korai vagy késői áttétképzés). Célunk volt továbbá az agyi áttéttel rendelkező betegek heterogén csoportjában meghatározni azon klinikai és patológiai jellemzőket, valamint prognosztikai és prediktív markereket, amelyek segítenek homogénebb betegcsoportokat képezni. Eredményeink elősegíthetik azon betegek kiválasztását, akiknél leginkább várható agyi áttét megjelenése. Munkáink alapul szolgálhatnak olyan nagyobb, átfogó vizsgálatokhoz, amelyek eredményeképpen kiválaszthatók lesznek azon betegek, akiknél szorosabb obszervációra, gyakoribb koponya MRI vizsgálatra lehet szükség az agyi áttét időben történő felfedezése érdekében, és ez jelentős túlélésbeli és életminőségbeli javulást hozhat. Az ilyen eredmények akár preventív intracranialis sugárterápia mérlegelését is megkönnyíthetik.

3. Betegek és módszerek

3.1 Betegcsoportok

3.1.1 Az agyi áttéttel rendelkező klinikai kohorsz

Retrospektív tanulmányunk során 575 citológiai vagy hisztológiai vizsgálattal igazolt agyi áttétet adó tüdőrákban szenvedő beteg adatait dolgoztuk fel. Meghatároztuk a primer tumor elhelyezkedését. A rendelkezésre álló mellkasi CT leletek és képanyag (4. ábra), valamint a bronchoscopos vizsgálatok leletei jegyzett endobronchiális kép alapján meghatároztuk a tumorok lebenyi lokalizációját.



4. ábra: Jobboldali perifériás tüdő adenocarcinoma CT képe

A hörgőtükrözések során leírásra került a tumor viszonya a légutakhoz. Centrálisnak tekintettük az endobronchiálisan látható, direkt tumorjelet adó elváltozásokat (5. ábra), perifériásnak pedig a csak indirekt tumorjelet mutató eltéréseket, valamint az endobronchiálisan nem látható primer daganatokat.



5. ábra: Centrális tüdő laphámrák endoscopos képe (A necrotikus felszínű daganat a jobb főhörgő bemenetét teljesen elzárja)

Ezen betegcsoportban az átlagéletkor $59,5 \pm 8,9$ évnek bizonyult (36-85 év), közöttük 311 férfi (átlagéletkor $59,7 \pm 8,3$ év (36-82 év)) és 264 nő ($59,2 \pm 9,6$ év, (37-85 év)) volt. Az agyi képalkotás 411 esetben CT-vel, 148 esetben MRI-vel történt. 25 betegnél rendelkezésre állt CT, illetve MRI vizsgálat eredmény is, ezen esetekben az MRI leletet vettük figyelembe annak jobb agyi leképező képessége miatt. 41 betegnél nem derült ki az agyi képalkotó vizsgálat pontos típusa. A betegeink többségében diagnóziskor csak klinikai stádium volt meghatározható, melyet a vizsgálat idején érvényes 7. kiadású TNM alapján adtunk meg. A régebben diagnosztizált daganatoknál a korábbi TNM szerint megadott stádiumot revideáltuk, és szükség esetén a 7. kiadású TNM szerinti, újbóli stádiummeghatározás történt. Dohányzási anamnézis 351 betegnél volt elérhető, ez a betegek 61%-a. Közülük 326 beteg a vizsgálat idejében, illetve korábban dohányzott, és csak mindössze 25 nemdohányos beteget regisztráltunk. Az átlagos pack-year index $39,4 \pm 19,8$ volt (férfiakban: $43,7 \pm 21,6$; nőkben: $35,1 \pm 16,8$).

A primer tumor sebészi reszekciója 161 betegnél volt elvégezhető. Az agyi áttét eltávolítására 253 esetben volt lehetőség, mindkét műtét 116 betegnél volt kivitelezhető.

Ezen betegcsoport klinikai, hisztopatológiai és radiológiai adatait a 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat: Az agyi áttéttel rendelkező betegek klinikopatológiai jellemzői

	Betegszám
Betegek	575
Férfi	311 (54%)
Nő	264 (46%)
Életkor	
≤60 év	337 (59%)
>60 év	238 (41%)
Dohányzási anamnézis	351 (61%)
Jelenleg dohányzik vagy ex-dohányos	326 (93%)
Nemdohányos	25 (7%)
Tüdőrák diagnózisa	
Citológia	117 (20%)
Hisztológia	458 (80%)
Sebészi reszekció	
Primer tüdőrák	161
Agyi áttét	253
Primer tumor és agyi áttét	116
Stádiumok	554
IA	21 (3,8%)
IB	38 (6,9%)
IIA	6 (1,1%)
IIB	26 (4,7%)
IIIA	68 (12,3%)
IIIB	52 (9,4%)
IV	343 (61,9%)

3.1.2 Primer tüdő tumor és agyi áttét immunhisztokémiai analízise

Jelen vizsgálatunkhoz munkacsoportunk korábbi munkájából [47] származó tüdőrákos eseteket használtunk fel. Összesen 78 tumormintát vizsgáltunk. 52 minta primer nem-kissejtes tüdőrák sebészi reszekátuma volt, közülük 29 laphámrák, 20 adenocarcinoma, 2 nagysejtes tüdőrák és 1 adenosquamosus carcinoma volt. Az 52 betegből 26 esetben lehetett agyi áttétet kimutatni, ezen esetben az operáció is megtörtént. 26 betegnél hosszas (88 hónap) utánkövetés során sem alakult ki agyi áttét. Dohányzási anamnézis 50 esetben volt elérhető. A két nagysejtes tüdőrák mintát az adenocarcinomától és laphámráktól jelentősen eltérő protein expressziós mintázata miatt kizártuk a statisztikai feldolgozásból (3. táblázat).

3. táblázat: Az agyi áttéttel rendelkező és a nem rendelkező (kontroll) csoport betegeinek klinikopatológiai jellemzői

	Tüdőrák agyi áttéttel	Tüdőrák agyi áttét nélkül (Kontroll csoport)
Betegek	26 (20 metakron / 6 szinkron)	26
Férfi/nő	17/9	19/7
Átlagéletkor	56,8 év (36-75 év)	56,4 év (42-72 év)
Szövettani típusok		
Laphámrák	14 (54%)	15 (58%)
Adenocarcinoma	9 (34%)	11 (42%)
Nagysejtes neuroendocrin carcinoma	2 (8%)	0
Adenosquamosus carcinoma	1 (4%)	0

	Tüdőrák agyi áttéttel	Tüdőrák agyi áttét nélkül (Kontroll csoport)
Stádium (A primer tumor diagnózisakor)		
IA	1 (4%)	5 (19%)
IB	7 (27%)	13 (50%)
IIA	1 (4%)	2 (8%)
IIB	6 (23%)	4 (16%)
IIIA	3 (11%)	2 (8%)
IIIB	2 (8%)	0
IV	6 (23%)	0
A peritumorális ödéma kiterjedése	20 (77%)	
nincs ödéma	4 (20%)	
< 10 mm	10 (50%)	
≥ 10 mm	6 (30%)	
Dohányzási szokások	50 (96%)	
nemdohányos	1 (2%)	1 (2%)
ex-dohányos	12 (24%)	5 (10%)
jelenleg dohányzó	11 (22%)	20 (40%)

3.1.3 A KRAS mutáció incidenciája és prognózisa agyi áttétet adó tüdő adenocarcinomákban

Retrospektív vizsgálatunkban ismert KRAS mutáció státusszal rendelkező 532, IV stádiumú tüdő adenocarcinomás beteg adatait elemeztük. A betegcsoportban 32 esetben EGFR mutáció is kimutatható volt, így ezen betegek adatait a további kiértékelésnél

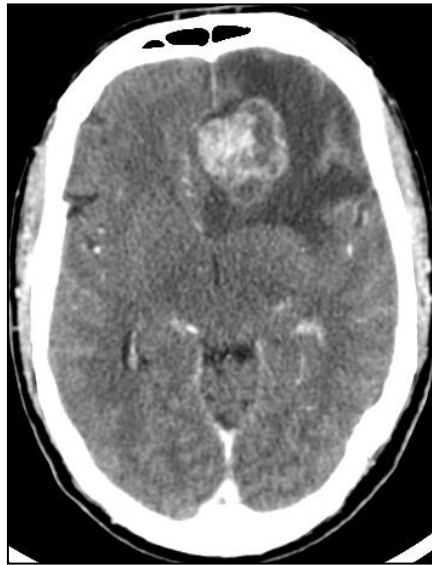
már nem vettük figyelembe. Munkánk során meghatároztuk, hogy a távoli áttétek egy szervet vagy több szervrendszert érintenek, valamint külön vizsgáltuk a tüdő, csont, mellékvese, pleura, máj és agyi áttétek jelentőségét a KRAS mutáció függvényében. Ezen áttéttel rendelkező betegek klinikopatológiai adatait összevetettük a dohányzási szokásokkal, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performance státusszal, és prognosztikai analíziseket végeztünk. A betegek közül 84-nél lehetett agyi áttétet kimutatni, és a továbbiakban döntően ezen esetek adatainak elemzését részletezem (4. táblázat).

4. táblázat: A távoli áttétet adó tüdő adenocarcinomás betegek klinikai adatai, kihangsúlyozva az agyi áttéttel rendelkező eseteket.

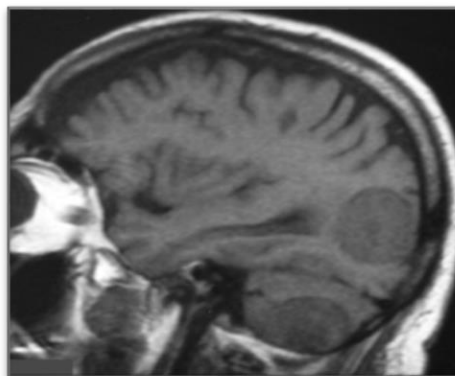
		Távoli áttét	
		Összesen	Agyi áttét
Betegszám		500	84
Csak egy szervrendszer		362 (72%)	53 (63%)
Életkor (átlag±SD) (év)		61,9±9,4	59,7±9,2
Nem	Férfi	245 (49%)	36 (43%)
	Nő	255 (51%)	48 (57%)
ECOG	0-1	459 (94%)	77 (93%)
	>1	32 (6%)	6 (7%)
	Ismeretlen	9	1
Dohányzás	Nemdohányos	67 (15%)	7 (9%)
	Ex-dohányos	141 (31%)	25 (32%)
	Jelenleg is dohányzik	250 (54%)	45 (58%)
	Ismeretlen	42	7
KRAS	Vad típus	357 (71%)	60 (71%)
	Mutáns	143 (29%)	24 (29%)
Medián OS (overall survival) (hónap)		10,8	10,3

3.2 Az agyi áttétek körül kialakuló ödéma vizsgálata

Az agyi áttétek körül megjelenő ödémát agyi CT és MRI vizsgálatok képanyagát és a hozzá tartozó leleteket átnézve vizsgáltuk. A radiomorfológiai adatok alapján 3 kategóriát hoztunk létre. Jelentősnek tekintettük az ödémát, ha 10 mm-nél nagyobb volt (6. ábra), mérsékeltnek pedig, ha 1-10 mm között volt. Meghatároztuk azon eseteket is, ahol nem volt vizenyő kimutatható (7. ábra).



6. ábra: Jelentős peritumorális ödémával járó agyi áttét CT képe



7. ábra: Peritumorális ödéma nélküli, multiplex agyi áttét MRI képe

Az ödéma méretének meghatározását a képalkotót megjelenítő program beépített mérőeszközeivel végeztük (Syngo Plaza, Siemens). A CT képeken az ödémát

perifokális hipodenzitásként azonosítottuk, vastagságát pedig a daganat legnagyobb axialis kiterjedésnél mértük a tumor szélétől a hipodenzitás határáig sugárirányban. A peritumorális ödéma meghatározását az MRI képeken is hasonlóan végeztük el. A tumor határát pontosan meghatároztuk a kontrasztos T1 súlyozott képek segítségével, és azonos magasságban lemértük a T2 súlyozott vagy FLAIR (fluid attenuation inversion recovery) képeken a perifokális hiperdenzitást a tumor határától a hiperdenzitás széléig sugárirányban. Legtöbbször a legnagyobb axiális tumorméret magasságában mértük a peritumorális ödéma szélességét. A koponyacsonthoz közeli felszínes elváltozások esetén azonban a peritumorális ödéma gyakrabban jelenet meg az alsóbb szeleteken, mint a tumor legnagyobb axiális kiterjedésénél, így itt kivételesen más magasságban mértük az ödémát.

Egyes betegeknél nem volt lehetőség az agyi képalkotás képi dokumentációjának részletes vizsgálatára, ilyen esetekben az írásos radiológiai lelet alapján határoztuk meg a peritumorális ödéma kategóriáját, hagyatkozva a radiológus által lemért adatokra.

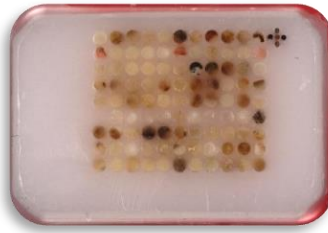
Összességében a peritumorális ödéma mértékéről 413 esetben volt radiológiai információ elérhető.

Azon – 52 beteget tartalmazó – betegcsoportunkban, ahol a primer tumor és agyi áttét klinikopatológiai összehasonlítását végeztük, peritumorális ödémára vonatkozó információ 20 esetben volt elérhető.

3.3 Szövetteni minták

A klinikopatológiai kohorsz szövettani diagnózisait a rutin hisztopatológiai feldolgozás során végzett elemzés alapján, tapasztalt tüdőpatológus, illetve neuropatológus állította fel, melyek megfeleltek a WHO kritériumainak. A szövettani diagnózis legtöbb esetben bronchoscopos minta, vagy agyi áttét műtéti preparátum vizsgálatán alapult. A primer tumor műtéti eltávolítására csak ritkábban került sor, így sok esetben az egyes speciálisabb szövettani altípus meghatározása nem volt kivitelezhető. Ez lehet a magyarázat arra, hogy adataink között például miért található nagyszámú anaplastikus carcinoma diagnózis.

A primer tumor és agyi áttét biomarker expressziójának összehasonlítása során az operált primer tumor és agyi metasztázis formalinban fixált paraffinba ágyazott szövetmintáit használtuk fel. Az eredeti blokkokból tissue microarray-t (TMA) készítettünk (8. ábra). A TMA egy szöveti multiblokk, melyet manuálisan, illetve újabban automatizált műszerek segítségével készítenek. A későbbi feldolgozási tervtől függően 24, illetve akár 70 darab minta egyidejű vizsgálatára is alkalmas. Munkánk során 2 milliméter átmérőjű szövethengereket vágunk ki számítógépes rendszer segítségével az eredeti donor szövettani blokkból, a mikroszkóppal kiválasztott, releváns tumorterületekről. A tumor heterogenitásától függően 2-4 tumorterületről is vettünk szövethengereket, melyeket a recipiens blokkba helyeztünk el. A TMA blokk orientációját az első pozícióba illesztett májszövet segítségével határoztuk meg. Az elkészült multiblokkot azután 56 °C-on inkubáltuk 5-8 percig, hogy a donor szövethengerek és a recipiens blokk összeolvadjon, majd ezt követően volt elvégezhető a metszés.



8. ábra: 70 tumormintát tartalmazó tissue microarray (TMA) recipiens blokk

3.4 Immunhisztokémiai reakciók

A primer tüdőrák és agyi áttéteinek vizsgálatához 29, már korábban tanulmányozott szövettani markert használtunk fel [47]. Ebben a munkában vizsgáltuk: a sejt differenciációban szerepet kapó legfontosabb markereket (CK-7, pan-CK, HBME-1, TTF-1, chromogranin-A), a sejtadhézió legfontosabb molekuláit (kollagén XVII, CD44v6, E-cadherin, β -catenin, syndecan-1), a sejtproliferáció elemeit (EGFR, nm23), a sejt ciklust szabályzó molekulákat (Ki-67, cyclin D1, -D3, p16, p27^{kip1}), a DNS replikációban és repair esetén fontos topoisomerase II-t és az apoptózis szabályozásában részt vevő fontos elemeket (bax, bcl-2, CAS [cellular apoptosis susceptibility protein]),

caspase-3,-8,-9, fas-310, p53). Az immunhisztokémiai reakció során használt markerek és főbb tulajdonságuk a 5. táblázatban található.

5. táblázat: Az immunhisztokémiai vizsgálatok során alkalmazott antitestek, előkezelések és hígítások

	Antitest	Klón	Gyártó	Előkezelés	Hígítás
1	Pan-Cytokeratin	Mouse/AE1-AE3	DakoCytomation	T/E	kit 2x
2	CK7	Mouse/OV-TL12/30	DakoCytomation	T/E	kit 2x
3	Collagen XVII	Mouse/6D1	Házilag készített	T/E	1:100
4	Collagen XVII	Mouse/9G2	Házilag készített	T/E	1:30
5	CD44v6	Mouse/VFF-7	NovoCastra	T/E	1:50
6	β -Catenin	Mouse/17C2	NeoMarkers	T/E	1:30
7	E-Cadherin	Mouse/36B5	Novocastra	Citrát	1:20
8	EGFR	Mouse/EGFR.25	Novocastra	T/E	1:100
9	p16	Mouse/6H12	Novocastra	T/E	1:30
10	p27 ^{kip1}	Mouse/SX53G8	DakoCytomation	T/E	1:50
11	p53	Mouse/PAb240	DakoCytomation	T/E	1:50
12	p53	Mouse/DO-7	DakoCytomation	T/E	kit 2x
13	p63	Mouse/4A4	NeoMarkers	T/E	1:50
14	Cyclin D1	Rabbit/ SP4	NeoMarkers	T/E	1:100
15	Cyclin D3	Mouse/DCS-22	DakoCytomation	T/E	1:30
16	Ki 67	Mouse/MIB-1	DakoCytomation	T/E	kit 2x
17	Topoisomerase II- α	Mouse/3F6	Novocastra	T/E	1:20
18	Caspase 3	Mouse/3CSP03	NeoMarkers	T/E	1:300
19	Caspase 8	Rabbit/polyclonal	NeoMarkers	T/E	1:200
20	Caspase 9	Rabbit/polyclonal	NeoMarkers	T/E	1:200
21	CAS	Mouse/30F12	Novocastra	T/E	1:50
22	Bax	Rabbit/polyclonal	Santa Cruz Biothechnology	T/E	1:2000
23	nm23	Rabbit/polyclonal	DakoCytomation	Citrát	1:100
24	Bcl-2	Mouse/124	DakoCytomation	T/E	kit 2x
25	FAS310	Mouse/GM30	Novocastra	T/E	1:200
26	TTF1	Mouse/SPT24	Novocastra	TRS	1:50
27	ChromograninA	Rabbit/polyclonal	DakoCytomation	T/E	1:3000
28	HBME-1	Mouse/HBME-1	DakoCytomation	T/E	1:100
29	CD138	Mouse/MI15	DakoCytomation	Citrát	1:50

T/E = 0.1 M Tris-HCl : 0.01 M EDTA, pH 9.0

Citrát = 0.1 M Citric acid-sodium citrate buffer, pH 6.0

TRS = Modified citrate buffer pH 6.1 (Dakocytomation)

A 70 mintát tartalmazó TMA blokkból 5 µm vastagságú sorozatmetszetek készültek, majd SuperFrost Ultra Plus üveg tárgylemezekre helyeztük őket (Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, Németország). A tárgylemezeket 60 °C-on legalább 2 órán keresztül melegítettük, hogy az immunhisztokémiai reakció előtt megfelelő adhéziót érjünk el. Az endogén peroxidázok blokkolására a deparaffinált metszeteken 30 percig 1%-os hidrogén-peroxid tartalmú metanolt alkalmaztunk. A hő indukálta epitóp feltáráshoz (heat-induced epitope retrieval (HIER)) egyes esetekben 6,1-es pH-val rendelkező feltáró oldatban (TRS, Dako, Glostrup, Dánia) 0,1 M Tris bázist és 0,01 M etilén-diamin-tetraacetát (pH 9,0; T/E) keverékét használtuk. Más esetekben 0,01 M citrát puffert alkalmaztunk (pH 6,0). A metszeteket tartalmazó tárgylemezeket és az oldatokat 5 literes rozsdamentes acél kuktában (Tefal Clipso) 2 percig, teljes nyomáson inkubáltuk. Ezen standard melegítési körülmények között a Tris-metilén-diamin-tetraacetátos oldat bizonyult hatékonyabbnak az antigének többségében. A többi antigén esetén tradicionális citrát puffert (pH 6,0) használtunk. A rutin vizsgálatokban nem használt antitesteket először kontroll szöveteken optimalizáltuk kétszeres hígításban, a korábban leírt feltárási körülmények között. Az előkezelt metszeteket az elsődleges antitesttel vagy szobahőmérsékleten 90 percig inkubáltuk, melyet a polymer-HRP conjugate EnVision+ detektáló rendszer (Dako) követett, vagy 41 °C-on Ventana ES (Tuscon, AR) automata immun-detektáló rendszert alkalmaztunk 40 percig. A peroxidáz aktivitást DAB (3-30 diaminobenzidine-tetrahydrochloride) hidrogén-peroxid chromogen szubsztrát kittel mutattuk ki (Dako vagy Ventana). A metszeteket glicerin-zselatin segítségével fedtük le.

Az immunhisztokémiai reakciók eredményeit szemikvantitatív módon egymástól függetlenül, két patológus elemezte ki. Az immunfestődések kiértékelése során a különböző antitesteknek megfelelően különböző pontrendszereket alkalmaztunk, amelyeket részleteit a 6. táblázatban tüntettük fel (6. táblázat). Az értékelésnél a standard kritériumok mellett figyelembe vettük a pozitív sejtek százalékos arányát és a festődés subcellularis lokalizációját is. A metszetek digitalizálását Mirax Scan (Göttingen, Németország) segítségével végeztük el, és a mikroszkópos képeket is ennek segítségével készítettük.

6. táblázat: Az immunfestődések értékelése során alkalmazott pontrendszerek

	0	1	2	3	Antitestek
1. pontrendszer	<2%	2-10%	11-40%	>40%	p53 (N)*, p63 (N)
2. pontrendszer	<5%	5-20%	21-50%	>50%	CK7 (C), BP180 (C), EGFR (CM), p16 (N), cyclin D1 (N), cyclin D3 (N), topoII α (N), caspase 3 (C), caspase 8 (C, pN), caspase 9 (C, N), Bax (C, N), Bcl-2 (C), FAS310 (CM), TTF1 (N), chromogranin A (C), HBME-1 (CM, C), CD138 (CM, C)
3. pontrendszer	<10%	10-30%	31-60%	>60%	pan-cytokeratin (C), CD44v/6 (CM, C), β -catenin (CM), E-cadherin (CM), p27kip1 (N), Ki-67 (N), CAS (C, N), nm23 (C, N)

* Festődési mintázatok: CM: cell membráne (sejtmembrán), C: cytoplasmic (citoplazmatikus), N: nuclear (nukleáris), pN: perinuclear (perinukleáris)

3.5 KRAS mutáció analízis

A KRAS mutáció analízis a Semmelweis Egyetem I. számú Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetében vagy a II. számú Patológiai Intézetben történt. A DNS izolálása a jelenleg érvényes NCCN ajánlások szerint történt formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövettani blokkokból, vagy citológiai mintákból, amely anyagok származhattak a primer tumorból és nyirokcsomó- vagy szervi áttétekből, ideértve a malignus pleurális folyadékot is.

A KRAS kimutatása mikropilláris alapú, restrikciós fragmentum hosszúság polimorfizmus analízissel (RFLP) történt [59]. A formalin fixált, paraffinba ágyazott szövetekből készült metszetek, valamint a citológiai kenetek hematoxylin-eosin festését követően a patológusok meghatározták a sejtdús daganatos területeket, majd ezen

részleteket mikrodisszekáltak. A DNS izolálást MasterPure™ DNA Purification Kit (Epicentre Biotechnologies, WI) segítségével végezték el a gyártó előiratának megfelelően. A mikrofolyadék alapú RFLP szenzitivitása 5%-os, mutációt hordozó tumoros sejt volt. Az 5%-os szenzitivitás miatt ezen küszöbérték felett kimutatott nem vad típus esetén tekintettük a mintát KRAS mutáció pozitívnak. A mutáns mintákban a bázispár szubsztitúciót azonosítottuk és ABI 3130 Genetic Analyzer System segítségével szekvenáltuk BigDye® Terminator v1.1 Kit felhasználásával.

3.6 Kiértékelés, statisztikai próbák

Az adatok kiértékeléséhez SPSS 17.0 programot (SPSS Inc., Chicago, Ill, USA) és GraphPad Prism 5 szoftvert (GraphPad Software Inc., San Diego, USA) használtunk.

A kategorikus változókat χ^2 próbával, 2x2-es kontingencia táblázatok segítségével Fisher exact teszttel hasonlítottuk össze. Odds ratiót is 2x2 kontingencia táblázatok segítségével számoltunk.

A folyamatos változókat normális eloszlás esetén ANOVA (analysis of variance) vizsgálattal elemeztük, post hoc tesztként Scheffe módszert alkalmaztunk. A normalitást Kolmogorov-Smirnov teszttel ellenőriztük, azonban csak az életkor esetén tudtunk normális eloszlást kimutatni. Nemparametrikus változók esetén 2 kategóriás összehasonlításnál Mann-Whitney U tesztet, több kategória esetén Kruskal-Wallis próbát alkalmaztunk. Wilcoxon tesztet azon esetekben alkalmaztunk, ahol párosított változókat hasonlítottunk össze (például primer tumor és az agyi metasztázis azonos immunhisztokémiai markerét). A korrelációs analízist Spearman-teszttel végeztük el.

A túlélés elemzéséhez egyváltozós modellben Kaplan-Meier görbéket hoztunk létre, a statisztikai különbséget log-rank módszerrel bizonyítottuk. Multivariáns analízishez Cox hazard modellt használtunk. A vizsgálat elvégzéséhez kiválasztottuk a változókat, melyek feltételezhetően a legnagyobb mértékben befolyásolták a túlélést, ezért minden változón elvégeztük az univariáns vizsgálatot, mely ebben az esetben a Kaplan-Meier görbe felrajzolását és a log-rank számítás elvégzését jelentette. Folytonos változók esetén kategorikus, 2 elemet tartalmazó változókat hoztunk létre az irodalomban

leggyakrabban használt cut-off értékek alapján. Ahol a p érték nem volt kisebb, mint 0,25, a változót továbbiakban nem vettük figyelembe.

Az összefüggéseket minden esetben csak akkor tekintettük statisztikailag szignifikánsnak, ha a $p < 0,05$ volt.

3.7 Etikai engedélyek

Az archivált szövettani blokkok felhasználásához az alábbi etikai engedélyekkel rendelkezünk: „Tüdőtumorok prognosztikai és prediktív faktorainak vizsgálata” (ETT-TUKEB, 510/2013, 52614-4-213 EKU), „Tüdőtumorok prognosztikai és prediktív faktorainak vizsgálata”, ETT-TUKEB, 7214-1/2016/EKU (0109/16) és „Agyi áttétek genomikai elemzése, klonális eredet, szervi specificitás vizsgálata” (ETT-TUKEB 86/2015).

4. Eredmények

4.1 Agyi áttétet adó tüdőrák

Az agyi áttéttel rendelkező klinikopatológiai betegcsoportban a centrálisan elhelyezkedő tumorok aránya 59% volt. Ismert, hogy a tüdőrákban szenvedő betegek 90%-a dohányos, az irodalmi adatok alapján a körükben kialakult malignus tüdődaganatok kétharmada perifériás elhelyezkedésű [97]. A hazai tüdőrákos betegek között is hasonló arányt figyelembe véve, az agyi áttétek esetén szignifikánsan gyakrabban helyezkedik el a primer tumor centrálisan ($p < 0,0001$). 2017-ben a magyarországi tüdőrákos betegek között a szövettani megoszlás az alábbi volt: 47% ADC, 25% SCC és 14% SCLC [6]. Adataink szerint agyi áttétben szenvedő betegeknél az SCLC gyakrabban fordul elő (7. táblázat).

7. táblázat: Az agyi áttétet adó tüdőrákban szenvedő betegek klinikopatológiai és radiológiai jellemzői

	Betegszám
Hörgőrendszeri lokalizáció	548 (95%)
centrális	319 (58%)
perifériás	229 (42%)
Lebenyi lokalizáció*	527 (92%)
felső lebeny	307 (58%)
középső lebeny	36 (7%)
alsó lebeny	241 (26%)
Szövettani altípusok	575 (100%)
ADC	272 (47%)
SCLC	118 (21%)
SCC	99 (17%)
Egyéb**	86 (15%)

	Betegszám
Távoli metasztázis IV stádiumú betegség esetén	341 (59%)
agy	180 (53%)
több szervet érintő	99 (27%)
tüdő	26 (8%)
máj	16 (5%)
mellékvese	13 (4%)
csont	9 (3%)
N stádium	467 (81%)
N0 (“brain only”)	135 (29%)
N1-3	332 (71%)
Peritumorális ödéma	413 (72%)
Nincs ödéma	70 (17%)
1-10 mm	120 (29%)
>10 mm	223 (54%)
Agyi áttét lokalizációja	452 (79%)
supratentoriális	283 (62%)
infratentoriális	80 (18%)
mindkettő	89 (20%)
Kisagyi érintettség	35 (17%)

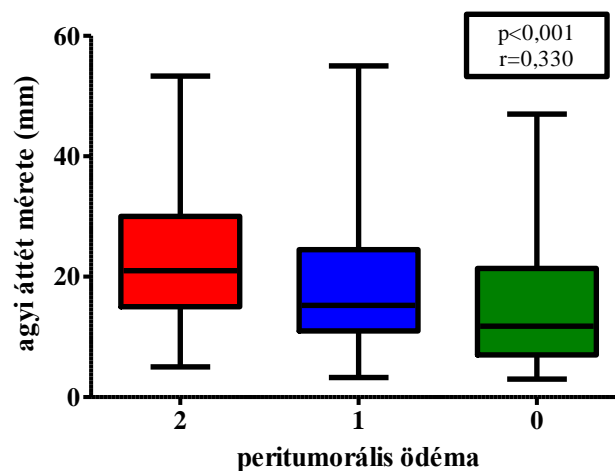
*A daganatok 9%-ában lebenyi lokalizáció nem volt meghatározható, mivel ezen esetekben a daganat a főhörgőben helyezkedett el.

**Egyéb szövettani altípusok: 41 anaplastikus carcinoma, 27 nem specifikálható carcinoma, 12 nagysejtes neuroendocrin carcinoma, 4 adenosquamosus carcinoma és 2 pleiomorf sarcomatoid carcinoma.

A betegek több mint felénél multiplex agyi áttét volt kimutatható (51,5%), SCLC esetén a többszörös megjelenés szignifikánsabban gyakoribb volt (42 szoliter, 74 multiplex,

$p=0,024$, χ^2 próba). Az alsó tüdőlebenyekben elhelyezkedő primer tumorok esetén szignifikánsabban gyakrabban mutattunk ki multiplex áttéteket ($p=0,048$, χ^2 próba). Magasabb T, illetve N stádium esetén valószínűbb volt a multiplex metasztatizálás ($p<0,001$ és $p=0,001$, Mann-Whitney U teszt). ADC és SCC legtöbbször supratentoriális áttétet adott, míg SCLC esetén valamennyi vizsgált agyi régió gyakran volt érintett ($p=0,041$, χ^2 próba).

Az agyi áttétek átlagos mérete $20,7\pm 11,7$ mm (3,0-55,0 mm) volt. A főhörgőben elhelyezkedő centrális tüdőrákok esetén alakultak ki a legnagyobb átmérőjű agyi áttétek (23,7 mm, $p=0,002$, Mann-Whitney U teszt). A multiplex áttétek szignifikánsan kisebbek voltak, mint a szoliter metasztázisok ($p=0,001$, Mann-Whitney U teszt). A szoliter daganatok esetén nem volt méretbeli különbség supra-, illetve infratentoriális elhelyezkedés között. Az agyi metasztázis mérete pozitív korrelációt mutatott a peritumorális ödéma mértékével ($p<0,001$, $r=0,330$, Spearman-korreláció) (9. ábra).



9. ábra: A peritumorális ödéma és az agyi áttét mérete (0: nincs ödéma, 1: mérsékelt ödéma, 2: jelentős ödéma)

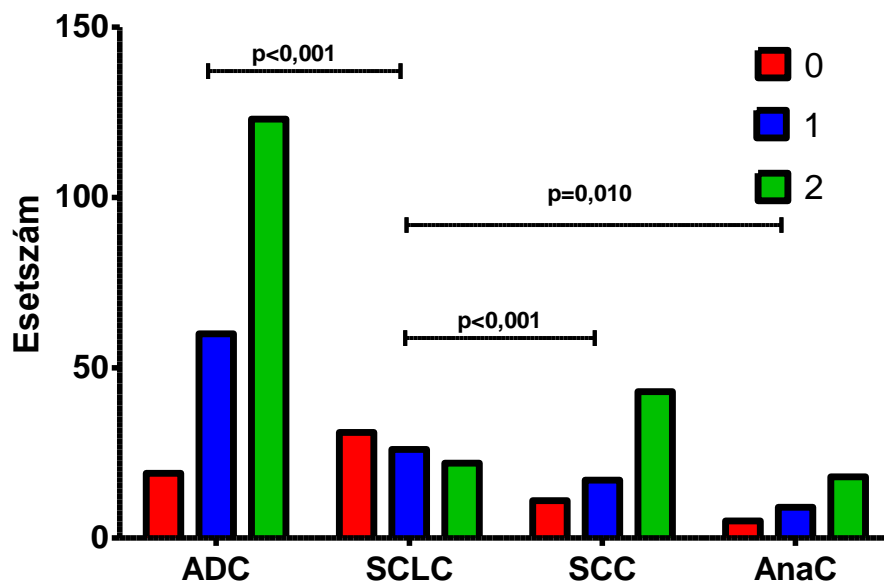
A metasztázisok átlagos méretét összehasonlítottuk a főbb szövettani típusokkal. A legnagyobb áttétek laphámrákban fordultak elő (átlag: 23,7 mm), míg ADC esetén átlagosan 20 mm-esek voltak a metasztázisok. A legkisebb méretű metasztázisokat SCLC esetén figyelhettük meg (átlag: 19,6 mm). A különbség SCC-SCLC, valamint

SCC-ADC között szignifikánsnak bizonyult ($p=0,044$ és $p=0,024$, Mann-Whitney U teszt).

4.1.1 Peritumorális ödéma

A peritumorális ödéma nagyobb mértékű volt supratentoriális tumorok esetén ($p=0,019$, χ^2 próba), fiatalabb, 50 éves vagy fiatalabb betegeknél ($p=0,042$, χ^2 próba), valamint nőknél ($p=0,016$, χ^2 próba).

A peritumorális ödéma elsősorban adenocarcinomára és laphámrákra volt jellemző, míg SCLC esetén a betegek 39,2%-ánál egyáltalán nem lehetett ödémát kimutatni. A különbség mind ADC-SCLC, SCC-SCLC, valamint anaplastikus carcinoma és SCLC között erősen szignifikáns volt ($p<0,001$, $p<0,001$ és $p=0,010$, χ^2 próba) (10. ábra).



10. ábra: A tüdőrák különböző szövettani altípusai esetén a peritumorális ödéma mértéke (0: nincs ödéma, 1: mérsékelt ödéma, 2: jelentős ödéma) (ADC: adenocarcinoma, SCC: laphámrák, AnaC: anaplastikus carcinoma)

Adenocarcinomában szenvedő nőkben a peritumorális ödéma jelenléte és nagyobb mértéke hosszabb túléléssel párosult (8,6 vs. 22,6 vs. 35,5 hónap, $p=0,015$, log-rank

teszt). Ez az összefüggés SCC és SCLC, valamint férfiak esetében nem volt kimutatható.

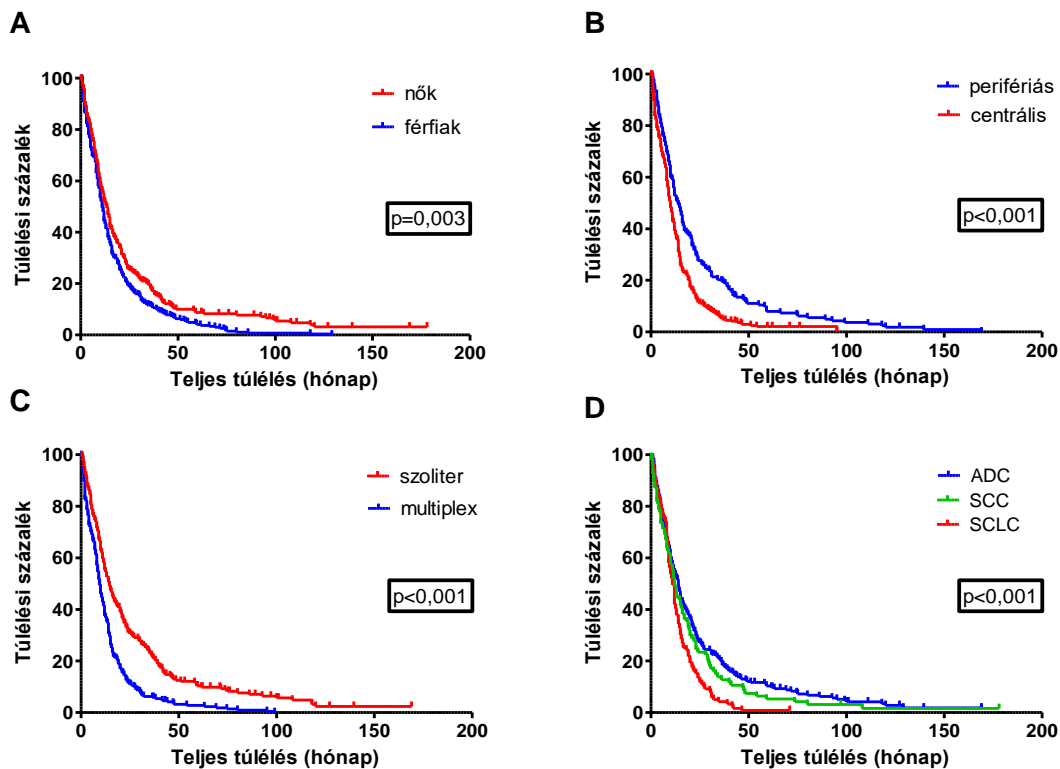
Peritumorális vizenyő tekintetében nem volt különbség centrális és perifériás, valamint szoliter vagy multiplex áttétek között.

4.1.2 Tumor stádiumok

A T stádium ADC-ben alacsonyabb volt, mint SCLC-ben ($p=0,050$, Mann-Whitney U teszt), továbbá alacsonyabb volt nőkben, mint férfiakban ($p=0,047$, Mann-Whitney U teszt). Az nyirokcsomó stádium tekintetében ennél is szignifikánsabb különbség volt megfigyelhető ADC és SCLC között. ADC sokkal gyakrabban járt együtt N0 stádiummal, mint SCLC ($p=0,005$, Mann-Whitney U teszt). Összességében a teljes kohorszban a centrális tumorok magasabb nyirokcsomó stádiummal jártak együtt, mint a perifériás tüdőrákok ($p<0,001$, Mann-Whitney U teszt). A IV stádiummal diagnosztizált betegek esetén ($n=343$) távoli áttét leggyakrabban az agyban volt ($n=180$), ezután a leggyakoribb a több szervet érintő távoli metasztázis volt ($n=99$). Diagnóziskor intrapulmonalis áttét 26 esetben, májáttét 16 esetben, mellékvese áttét 13 esetben, csontáttét pedig 9 esetben volt észlelhető. Azon esetekben, ahol a kezdeti IV stádium az agyi áttét miatt volt, a fő szövettani típusok eloszlása az alábbi volt: 96 ADC, 27 SCC, 22 SCLC. Ez a betegcsoport nem és életkor tekintetében nem különbözött a teljes betegcsoporttól.

4.1.3 Túlélés

Vizsgálatunkban az agyi áttétet adó tüdőrákos betegek medián túlélése 12,0 hónap volt (átlag:19,2 hónap, 0-178 hónap). A medián túlélés az agyi áttét felfedezése után 5,0 hónapnak bizonyult (átlag:11,2 hónap, 0-176 hónap). Hosszabb volt a teljes túlélése a nőknek ($p=0,003$, log-rank teszt), a perifériás tüdőrákban szenvedőknek ($p<0,001$, log-rank teszt) és a szoliter agyi áttéttel rendelkezőknek ($p<0,001$, log-rank teszt). A teljes túlélés a leghosszabb az adenocarcinomás betegeknél volt (átlag: 25,0 hónap), ezt követte a laphámrák ($n=20,4$ hónap), majd mindkettő korábbinál szignifikánsan rosszabb volt a túlélés a kissejtes tüdőrákos ($n=13,6$ hónap) és az anaplastikus carcinomás betegek ($n=10,4$ hónap) körében (mindkettő $p<0,001$, log-rank teszt) (11. ábra).



11. ábra: Az agyi áttéttel rendelkező betegek teljes túlélése a nem (A), a primer tumor lokalizációja (B), az áttét multiplicitása (C) és a főbb szövettani altípusok (D) függvényében

Ezzel ellentétben nem volt különbség a teljes túlélésben az életkor, az áttét mérete, a peritumorális ödéma vagy az intracranialis tumor lokalizáció függvényében.

391 beteget vizsgálatunk multivariáns analízissel. Eredményeink alapján a túlélést elsősorban a primer tumor reszekciója ($p < 0,001$), az agyi áttét eltávolítása ($p < 0,001$), a mellkasi irradiáció ($p < 0,001$) és az agyi sugárterápia, különösen a sztereotaxiás besugárzás WBRT-vel kombinálva ($p = 0,002$) befolyásolta kedvezően, míg rövidebb túlélés volt megfigyelhető multiplex agyi áttét és centrális primer tüdőtumor esetén ($p = 0,036$; $p = 0,022$).

4.1.3.1 A primer tumor eltávolításának hatása a túlélésre

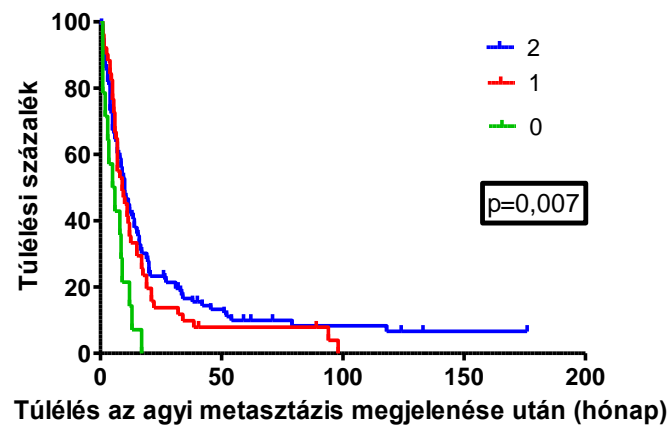
Az operált betegcsoportban ($n = 158$) csak az I stádium bizonyult jobb prognosztikai faktornak a többi stádiumhoz képest ($p = 0,003$, log-rank teszt). Ebben a betegcsoportban az operált agyi áttét nem jelentett túlélési előnyt a nem operáltakhoz képest ($p = 0,065$),

ugyanakkor a fiatalabb életkor kedvezőbb prognózissal társult. 55 éves életkor alatt a medián túlélés 50,1 hónap volt, az ennél idősebb betegek túlélése pedig 34,3 hónap volt ($p=0,014$, log-rank teszt). A centrálisan elhelyezkedő tüdőrák kedvezőtlen prognosztikai tényező volt ($p=0,005$, log-rank teszt).

Azon betegeknél, ahol nem lehetett elvégezni a primer tumor eltávolítását, az agyi áttét műtétjének kivitelezhetősége jó prognózist jelentett ($p=0,006$, log-rank teszt). Fontos megemlíteni, hogy ebben a betegcsoportban a fiatal életkor rossz prognosztikai faktornak bizonyult, mivel az 55 év alatti betegek medián túlélése 9,8 hónap volt, szemben az idősebb betegek 13,1 hónapos túlélésével ($p=0,017$, log-rank teszt).

4.1.3.2 Agyi metastasectomia és hatása a túlélésre

Az operált agyi áttéttel rendelkező csoportban ($n=254$) a szövettani eloszlás az alábbi volt: 144 ADC, 51 SCC, 24 SCLC és 35 egyéb típus. A peritumorális ödéma 185 esetben volt meghatározható, ebből 119 esetben jelentős fokú, 52 betegnél mérsékelt ödéma volt megfigyelhető, míg 14 agyi áttét körül nem volt vizenyő. Az agyi áttét reszekciója után a medián teljes túlélés 10,0 hónap volt. Rövidebb volt a túlélés centrális primer tumor ($p=0,024$, log-rank teszt) és multiplex agyi áttétek esetén ($p=0,004$, log-rank teszt). Érdekes megfigyelés, hogy a jelentős perifocalis ödémával bíró betegeknél jobb volt a túlélésük ($p=0,007$, log-rank teszt), mivel a medián túlélés jelentős ödémánál 26,5 hónap volt, mérsékelt ödémánál 17,2 hónap volt, míg ödéma nélküli esetekben 6,4 hónap volt (12. ábra).



12. ábra: Metastasectomián átesett betegek túlélése az agyi metasztázis megjelenése után a peritumorális ödéma függvényében (0: nincs ödéma, 1: mérsékelt ödéma, 2: jelentős ödéma)

Sem a tentoriális elhelyezkedés, sem pedig az áttét mérete nem befolyásolta a túlélést ebben a betegcsoportban.

Azon betegeknél, akiknél nem lehetett elvégezni a metastasectomiát (n=303), a medián túlélés mindösszesen 3 hónap volt. Centrális tüdőrák esetén itt is valamivel – bár nem szignifikánsan – rövidebb volt a túlélés (p=0,062, log-rank teszt). Ebben a betegcsoportban a multiplex áttét szignifikánsan rosszabb túléléssel párosult (p=0,005, log-rank teszt). A tentoriális elhelyezkedés nem befolyásolta a túlélést, ugyanakkor a nagyobb áttétek valamivel rosszabb túléléssel jártak együtt. A kombinált kemoterápia és az agyi besugárzás ezzel szemben növelte a túlélést (p<0,001 és p<0,001, log-rank teszt).

4.1.3.3 Az aktív onkoterápia nélküli betegek túlélése

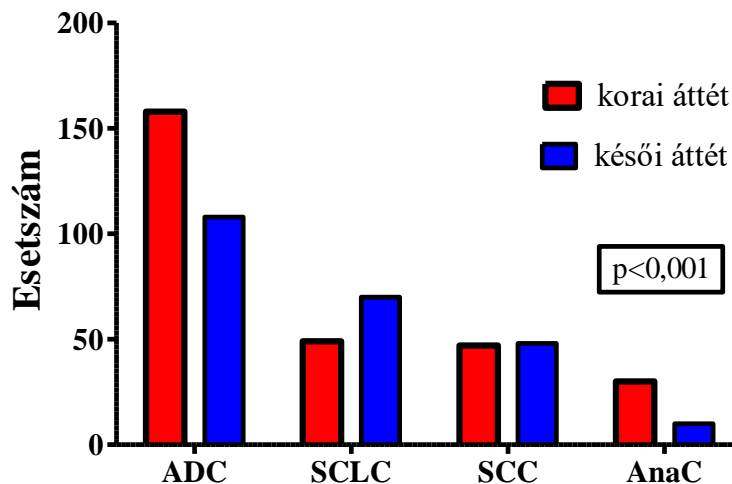
Kohorszunkban 41 beteg nem részesült aktív onkoterápiában. A medián túlélésük 2,0 hónap volt, az agyi áttét felfedezése utáni túlélésük pedig 1,5 hónap.

4.1.4 Metasztatizálási idő

Vizsgáltuk a tüdőrák diagnózisától az agyi metasztázis megjelenéséig eltelt időt. Ez az időintervallum 565 betegnél volt meghatározható, az átlag $7,8 \pm 12,9$ hónap volt. A metastatizálási idő szignifikánsan rövidebb volt centrális tüdőrák esetén a perifériáshoz képest (5,3 vs. 9,0 hónap, p=0,035, Mann-Whitney U teszt). A magasabb T, illetve N stádium ugyancsak rövidebb metastatizálási idővel járt (r=-0,110, p=0,016 és r=-0,191,

$p < 0,001$, Spearman-teszt). A primer tüdőrák eltávolítása esetén az agyi áttét megjelenéséig eltelt idő hosszabb volt, mint ahol nem volt lehetőség a primer tumor reszekciójára ($p < 0,001$, Mann-Whitney U teszt). A legrövidebb medián metasztázisidő anaplastikus carcinomában volt megfigyelhető (0 hónap), ezt követte az ADC (0,5 hónap), majd az SCC (3,3 hónap) és az SCLC (5,0 hónap).

További vizsgálatok elvégzése céljából a metasztázisidő tekintetében két kategóriát hoztunk létre: korai áttétnek tekintettük a 0-3 hónap között kialakult metasztázisokat ($n=311$), későinek pedig a 3 hónap után kifejlődötteket ($n=254$). Korai áttét elsősorban anaplastikus carcinomára és adenocarcinomára volt jellemző, míg az SCLC legtöbbször a betegség későbbi fázisában adott áttétet az agyba ($p < 0,001$, χ^2 teszt) (13. ábra).



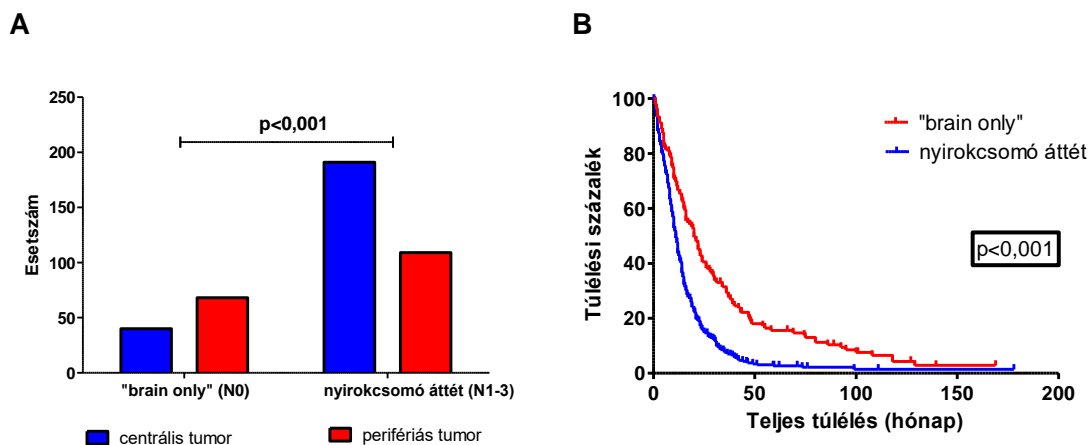
13. ábra: A szövettani altípusok és a metasztázisidő (ADC: adenocarcinoma, SCLC: kissejtes tüdőrák, SCC: laphámrák, AnaC: anaplastikus carcinoma)

Azon betegcsoportban, ahol nem történt meg a primer tumor eltávolítása ($n=401$), a metasztázisidő a szövettani típusok tekintetében még jelentősebb eltérést mutatott. Ezen betegcsoportban az ADC-ben a korai agyi áttét az esetek 76%-ában fordult elő, hasonlóan az anaplastikus carcinomához (78%). Ezzel ellentétben SCLC esetén korai áttét csak 45%-nál volt megfigyelhető ($p < 0,0001$, χ^2 teszt).

4.1.5 „Brain only” metasztázis

Munkánk során 467 olyan agyi áttétet adó tüdőrákos beteg adatait vizsgáltuk, akiknek klinikai és/vagy patológiai N stádiuma meghatározható volt. 135 esetben találtunk olyan betegeket, akiknek nem volt nyirokcsomó áttétük a tüdőrák diagnózisakor. Az ilyen, N0 stádiumú betegek primer tumora szignifikánsan gyakrabban fordult elő perifériásan ($p < 0,001$, χ^2 teszt), ezzel szemben a nyirokcsomó áttéttel rendelkező betegek ($n=332$) gyakrabban szenvedtek centrális tüdőrákban ($p < 0,001$, χ^2 teszt).

Brain only, azaz nyirokcsomó áttét nélküli, agyi áttét gyakrabban fordult elő adenocarcinomában és legtöbbször szoliter metasztázissal társult ($p=0,001$, χ^2 teszt). A metastasectomiák aránya is magasabb volt ebben a betegcsoportban (78/135). Ezen kohorszban is gyakrabban végeztek el agyi metastasectomiát perifériás tüdőrákok esetén ($p=0,021$, χ^2 teszt). A brain only megjelenés nem különbözött az egyes szövettani altípusok között. Ebben a betegcsoportban szignifikánsabban gyakrabban jelent meg agyi áttét 3 hónapnál később ($p=0,004$, χ^2 teszt), továbbá az átlagos metasztatizálási idő is szignifikánsan hosszabb volt, mint a nyirokcsomó áttéttel rendelkező eseteknél (9,2 vs. 4,4 hónap, $p < 0,001$, Mann-Whitney U teszt) (medián: 6,0 hónap vs. 1,0 hónap). Hasonlóképpen, a teljes túlélés is szignifikánsan hosszabb volt a brain only csoportban, szemben a nyirokcsomó áttétes betegekkel (31,1 vs. 15,3 hónap, $p < 0,001$, log-rank teszt) (medián: 20 vs. 11 hónap) (14. ábra).



14. ábra: A: Nyirokcsomó áttét jelenléte és a primer tumor lokalizációja

B: Nyirokcsomó áttétek és a teljes túlélés összefüggései

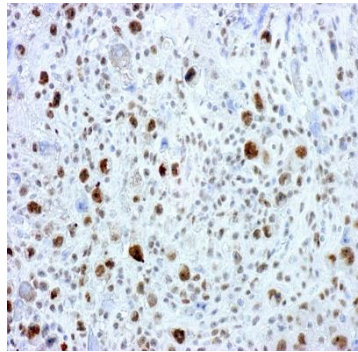
A brain only betegcsoportban a nők teljes túlélése hosszabb volt, mint a férfiaké, de a különbség nem volt szignifikáns (40,5 hónap vs. 27,5 hónap, $p=0,068$, log-rank teszt), annak ellenére, hogy nem volt különbség a nők és férfiak arányában a primer tumor vagy a metastasectomia tekintetében.

4.1.6 50 év alatti betegek

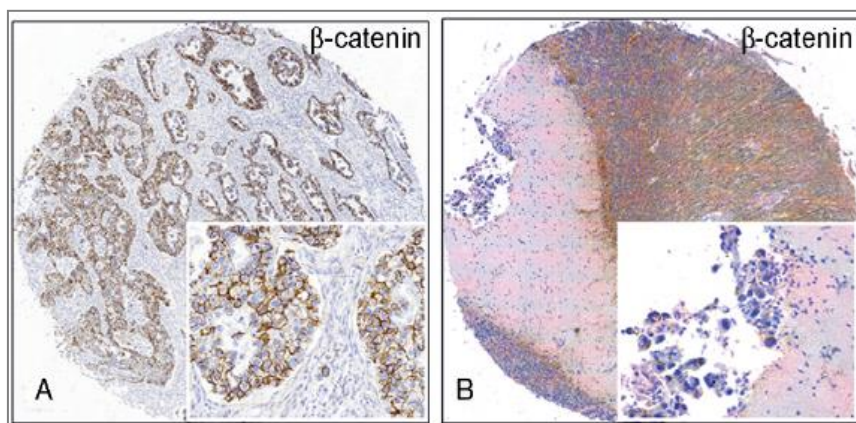
Az irodalmi adatok alapján, az agyi metasztázist adó tüdőrákos betegek vizsgálatánál – a tüdőrák magasabb átlagéletkora miatt – a legtöbb esetben 60 évnél húzták meg a határt idősebb és fiatalabb betegek között. Munkánk során azonban különös figyelmet fordítottunk a fiatalabb tüdőrákos betegekre is. Ennek során összehasonlítottuk az 50 éves vagy ennél fiatalabb, valamint az 50 évnél idősebb betegek klinikopatológiai jellemzőit. Azért húztuk meg a határt 50 évnél, mert a nők menopauzája átlagosan 50 éves kor körül jelentkezik, így a későbbiekben az agyi áttétképződés esetleges hormonális hátterét is tudjuk majd vizsgálni. A magyarországi tüdőrákos betegpopulációnak mindösszesen 4%-a 50 év alatti [6], ezzel szemben az agyi metasztázissal rendelkező kohorszunkban 86 beteg tartozott ebbe a korosztályba, ami 15%-ot jelent. Az agyi áttét szignifikánsan gyakrabban alakult ki 50 éves vagy fiatalabb betegekben, ezzel összhangban az agyi áttét megjelenésének rizikója magasabb volt az 50 éves vagy fiatalabb betegeknél, mint az idősebbekben (OR=4,208, CI:3,315-5,342)). A peritumorális ödéma gyakrabban alakult ki fiatalabb betegekben ($p=0,042$, χ^2 teszt) és nőkben ($p=0,016$, χ^2 teszt). Az 50 éveseknél vagy fiatalabbaknál a nemek között nem volt kimutatható különbség ($p=0,722$, χ^2 teszt), azonban az 50 év feletti betegeknél a nőkben volt gyakoribb a jelentős peritumorális ödéma ($p=0,017$, χ^2 teszt).

4.2 Primer tumor és agyi áttét immunhisztokémiai vizsgálata

Az agyi áttétek előrejelzésére használt regressziós analízis során ADC-ben a magasabb kollagén XVII ($p=0,011$), míg laphámrákban az emelkedett caspase-9 ($p=0,008$) (15. ábra), CD44v6 ($p=0,031$), és a csökkent CAS ($p=0,029$) és Ki-67 ($p=0,032$) expresszió járt együtt agyi áttét kialakulásával. A metasztatizálás során az ADC alcsoportban a β -catenin szignifikáns elvesztését tudtuk kimutatni (16. ábra), míg az E-cadherin és bax markerek eltűnése majdnem elérte a statisztikailag szignifikáns mértéket ($p=0,054$ és $p=0,059$) (16. ábra) (8. táblázat).



15. ábra: Caspase-9 expresszió tüdő laphámrák esetén (HE x200) A caspase-9 erős sejtmagi pozitivitást mutatott.



16. ábra: β -catenin expresszió primer tüdőrákban (A) és agyi áttétben (B) (HEx100/150)

8. táblázat: Biomarker expressziós különbségek adenocarcinomában és laphámrákban

	ADC	SCC
Tüdőrák agyi áttéttel vs. tüdőrák agyi áttét nélkül	+ kollagén XVII	+ caspase-9 + CD44v6
		- CAS - Ki-67
Agyi áttétben biomarker megjelenése	p16, topoII α , CAS, syndecan-1, cyclin D1	caspase-3
Agyi áttétben biomarker elvesztése	β -catenin	

+: magasabb expresszió

-: alacsonyabb expresszió

Félkövér jelzéssel a $p < 0,001$ szintű szignifikanciát jeleztük.

Megvizsgáltuk a különböző markerek a metasztázisképzés során újonnan való megjelenését is. Az ADC alcsoportban szignifikánsan növekedett a p16, topoII α , syndecan-1, cyclin D1 és CAS expresszió (valamennyi esetben $p < 0,05$), és nem szignifikánsan ugyan, de növekedett a cyclin D3 és Ki-67 expresszió is ($p = 0,066$ és $p = 0,083$).

A dohányzás és a vizsgált markerek közötti összefüggéseket a 9. táblázatban mutatjuk be. A áttétet adó adenocarcinomáknál szignifikáns pozitív korreláció volt kimutatható a dohányzás mértéke és a p16 ($p = 0,024$), valamint a caspase-8 ($p = 0,045$) expresszió között. A nem-metasztázáló SCC csoportban negatív korreláció volt megfigyelhető a dohányzás mértéke és a caspase-3 expresszió között ($p = 0,039$). Az agyi metasztázist adó primer laphámrákokban negatív korreláció volt észlelhető a dohányzás és p27 expresszió között ($p = 0,038$). Fontos azonban megemlítenünk, hogy ebben a betegcsoportban egyetlen eset kivételével a betegek mindannyian – vagy korábban, vagy a mintavétel idején is – dohányoztak.

Megvizsgáltuk a nem és a biomarkerek közötti összefüggéseket. Nők esetén adenocarcinomában csökkent cyclin D1 expressziót találtunk férfiakhoz képest, de csak

a nem-metasztatizáló csoportban ($p=0,016$). SCC esetén nem találtunk különbségek a nemek tekintetében az egyes biomarkerek között.

Vizsgáltuk a peritumorális ödéma protein expressziókkal való összefüggéseit. ADC esetén nem találtunk eltérést ebben a vonatkozásban, sem a primer tumorban, sem a metasztázisban. Primer SCC esetén az emelkedett β -catenin ($p=0,026$) és E-cadherin ($p=0,026$), úgymint a csökkent caspase-9 ($p=0,037$) expresszió szignifikáns összefüggést mutatott a peritumorális ödéma nagyságával. Az SCC agyi áttéteiben a csökkent CD44v6 expresszió mutatott erősen szignifikáns korrelációt a peritumorális ödéma nagyságával ($p=0,002$).

9. táblázat: Biomarker expressziós különbségek adenocarcinoma és laphámrák között dohányzás, nemek és az áttét körül kialakult peritumorális ödéma függvényében.

	ADC			SCC		
	Nem metasztatizáló primer tüdőrák	Agyi áttétképző primer tüdőrák	Agyi áttét	Nem metasztatizáló primer tüdőrák	Agyi áttétképző primer tüdőrák	Agyi áttét
Dohányzás		+ p16 + caspase 8				
				- caspase 3	- p27	
Női nem						
	- cyclin D1					
Peritumorális ödéma					+ β -catenin + E-cadherin	
					- caspase-9	- CD44v6

+: emelkedett expresszió

-: csökkent expresszió

4.3 A KRAS mutáció incidenciája és prognosztikai jelentősége agyi áttétet adó tüdő adenocarcinomákban

4.3.1 A betegek jellemzői és a metasztázis mintázat

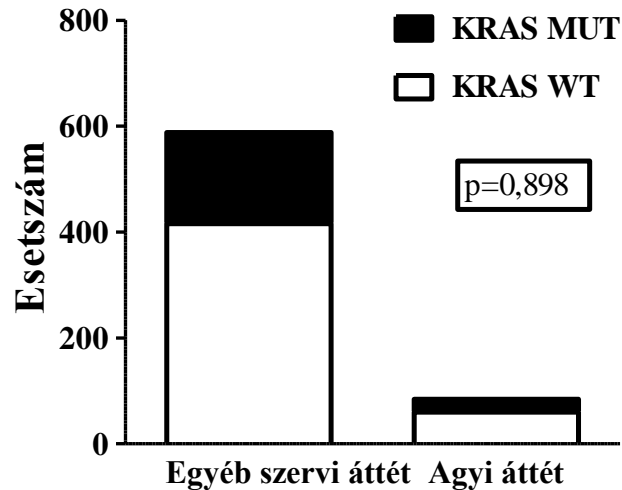
Az 500 kaukázusi ADC beteget tanulmányozó munkánk során 362 (72%) esetben egyetlen szervrendszert érintő metasztázisokat találtunk, míg 138 betegnél több szervrendszerben lehetett áttétet kimutatni. Távoli áttét ebben a kohorszban leggyakrabban a tüdőben (45,6%) alakult ki, ezt követte a csont (26,2%), a mellékvese (17,4%), az agy (16,8%), a pleura (15,6%), majd a máj (11%) érintettsége.

Az agyi metasztázisos betegek szignifikánsabban fiatalabbak voltak a tüdőáttétben szenvedőknél ($p=0,009$).

Az ECOG stádium és a dohányzás tekintetében nem különbözött az agyi áttéttel rendelkező csoport a többi betegtől.

4.3.2 A KRAS státusz és a metasztázis mintázat

A teljes betegcsoportban a KRAS mutáció incidenciája 28,6% volt. A metasztázisok lokalizációja és a KRAS mutáció összefüggéseit a 17. ábra demonstrálja.



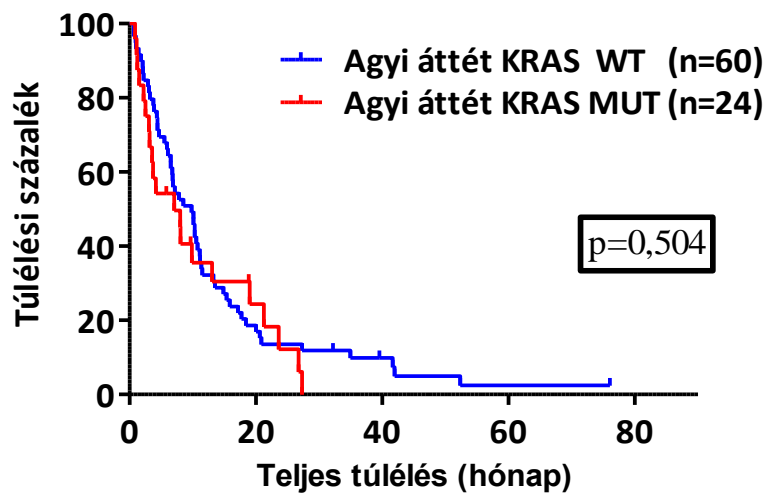
17. ábra: A KRAS mutáció incidenciája távoli szervi metasztázisok esetén

Agyi metasztázis jelenléte esetén a teljes kohorsz számértékeihez hasonló KRAS mutáció gyakoriságot tudtunk kimutatni (29%).

4.3.3 A túlélés vizsgálata

A medián teljes túlélés a teljes betegcsoportban 10,8 hónap volt, függetlenül attól, hogy a távoli áttét egy, vagy több szervet érintett. A kizárólagosan az agyban megjelenő áttétek esetén a teljes túlélés 10,3 hónapnak bizonyult, ami szignifikánsan rövidebb volt, mint például tüdő érintettség esetén (10,3 vs. 15,6 hónap, HR:1,5;95% CI:1,004-2,117, $p=0,04$).

Megvizsgáltuk a KRAS mutáció gyakoriságát az egyes szervi lokalizációk függvényében, továbbá tanulmányoztuk a KRAS mutáció kapcsolatát a teljes túléléssel. Az agyi áttéttel rendelkező betegek esetében nem volt különbség a KRAS incidenciában, és a mutáció jelenlétének nem volt hatása a túlélésre, így ebben a betegpopulációban nem bizonyult prognosztikai faktornak ($p=0,504$) (18. ábra).



18. ábra: A KRAS mutáció hatása a teljes túlélésre agyi metasztázissal rendelkező betegek esetében

5. Megbeszélés

5.1 Prognosztikai tényezők az agyi áttéttel rendelkező tüdőrákos betegeknél

5.1.1 A primer tumor lokalizációja

Kohorszunkban a betegek több mint 58%-ában találtunk centrális, azaz endobronchiálisan látható primer tumort. Köztudott, hogy a tüdőrákok 85-90%-a dohányzáshoz köthető, továbbá ismert, hogy a tüdőrákok 2/3-a perifériásan fejlődik ki [97]. Ez alapján felmerül a kérdés, hogy centrális tüdőrákok esetén agresszívebb biológiai tulajdonságokkal bíró, nagyobb metasztázis képzési hajlammal rendelkező tumorok fejlődnek-e ki. Erre utalhat Malara és munkatársainak eredménye, akik kimutatták, hogy centrális tüdőrákok esetén gyakoribb volt a rossz prognosztikai faktorként ismert P53 mutáció és az aneuploiditás, mint a perifériás tumorokban [98].

Az irodalomban ezidáig nem jelent meg közlemény a különböző lokalizációjú primer tüdőrákok agyi áttétképző tulajdonságairól. Munkánk során elsőként írtuk le, hogy az agyi áttétet adó tüdőrákoknál gyakoribb a centrális elhelyezkedés. Az agyi áttétet adó tüdőrákok esetében ugyanakkor kedvezőbb biológiai viselkedést tudtunk igazolni perifériás primer daganatok meglétekor, mivel ilyenkor szignifikánsan hosszabb volt a túlélés a teljes betegpopulációban mind a primer tumor, mind pedig az agyi áttét komplett reszekcióján átesett betegcsoportban.

Egy közlemény szerint I stádiumú ADC esetén a centrális lokalizációjú tumorok gyakrabban mutattak nem-lepidikus terjedést, azaz agresszívebb viselkedést, és magasabb volt a relapszus rátájuk, mint a perifériás daganatoknak [99]. A centrális tumorok ezen vizsgálatban gyakrabban kerültek felfedezésre előrehaladottabb stádiumban, nagyobb volt a primer tumorok mérete és többször mutattak nyirokcsomó inváziót. Jelen munkánkban leggyakrabban ADC esetén láttunk magasabb centrális tumor arányt az agyi áttéttel rendelkező betegek körében, azonban szövettani altípus elemzésre nem került sor.

Egy nemrégiben elvégzett vizsgálatban 417 operált primer tüdő adenocarcinomás beteg adatait és szöveti mintáit elemezték [100]. Centrálisnak tekintették a szegmentális, illetve lobáris érintettséget. Adataik szerint nem volt különbség a centrális és perifériás tumorok között a nem és az életkor tekintetében, de a stádium előrehaladottabb, a nyirokcsomó érintettség pedig gyakoribb volt a centrális daganatok esetében. Megvizsgálták a szöveti mintákon a daganat néhány patológiai jellemzőjét. Centrális tumoroknál gyakrabban láttak lymphovascularis inváziót, necrosist és a tumor grade is magasabb volt. Nagyobb volt a mitotikus ráta és gyakoribb volt a sejtmag atípiá. A centrális daganatokra ezen kívül jellemző volt a dominánsan szolid szöveti kép, ezzel szemben a perifériás tumorok között több volt az in situ carcinoma, a minimál invazív adenocarcinoma és a lepidikus terjedést mutató daganat. Centrális daganatok esetében a tumormentes túlélés rövidebb volt uni- és multivariáns összehasonlításban egyaránt. Az eltérések hátterében feltételezik a centrális és perifériás daganatok nyirokelvezetésének különbségeit, azaz centrális daganatoknál a fő bronchialis elvezető rendszer nagyobb területről és nagyobb kaliberű erekkel szállítja el a nyirokfolyadékot, emellett az első nyirokcsomóig rövidebb utat kell megtennie [101]. Mindezen eredmények és megállapítások összhangban vannak a mi vizsgálati eredményeinkkel. Yatabe és munkatársainak felvetése szerint a centrális és perifériás adenocarcinomák különböző sejtekből indulnak ki, így eleve más patogenezist feltételeznek [102]. Sun és munkatársai szerint a perifériás daganatok esetén több a terminális respiratórikus területekről (terminal respiratory unit, TRU) kiinduló tumor, míg centrális daganat esetén leginkább non-TRU típust találtak [100]. A TRU típusú daganatokban Clara-sejt, II. típusú pneumocytá és bronchiolus sejt irányú differenciáció volt megfigyelhető, míg a non-TRU típusú daganatokban a bronchiális epithel sejt, mucinosus sejt és a kehelysejt differenciáció volt jellemző [102].

Az irodalmi adatok alapján az SCC-k 2/3-a centrális elhelyezkedésű, míg munkánkban az agyi áttétellel rendelkező betegcsoportban az SCC-k 79%-ában figyeltünk meg centrális elhelyezkedést. Eredményünk összhangban áll azzal a korábbi megfigyeléssel, hogy a perifériás SCC jobb prognózisú, mint a centrális, ritkábban jár nyirokcsomó érintettséggel és legtöbbször idősebb betegekben alakul ki [103, 104].

5.1.2 Egyéb klinikai jellegű prognosztikai faktorok

5.1.2.1 Nemi különbségek

Vizsgálati kohorszunkban a nők teljes túlélése szignifikánsan jobb volt, mint a férfiaké, ami összhangban van számos vizsgálattal. Wronski és munkatársai operált agyi áttétes betegeknél a nőknél hosszabb túlélést tapasztaltak mind a teljes túlélésben, mind pedig az agyi áttét diagnosztizálását követően, uni- és multivariáns vizsgálattal egyaránt [105-107]. További tanulmányok is alátámasztják ezeket az eredményeket nem szelektált betegcsoportokban [108-110] és szinkron agyi metasztázisok esetén, WBRT kezelésen átesett betegeknél [111]. A nemi különbséget a tüdőrák prognózisában egyebek mellett magyarázhatja, hogy a férfiak nagyobb mértékben veszítenek súlyt a betegség lefolyása alatt, mint a nők [112]. Több tényezőt feltételeznek a háttérben: egyes vizsgálatok szerint a nők daganata alacsonyabb stádiumban kerül felfedezésre, lassabb a betegség lefolyása, azonban ezek a tényezők nem kellően bizonyítottak [113]. Felvetődött továbbá, hogy a nők alacsonyabb kapacitású detoxikálási folyamatai ugyancsak magyarázhatják a megnövekedett tüdőrák prevalenciát, azonban ezzel ellentétesen hat, hogy ezáltal a daganatellenes gyógyszerek nagyobb koncentrációban jelenhetnek meg a vérben, ami hatékonyabb kezelést, nagyobb tumorkontrollt eredményezhet, de egyben több toxicitást is okoz [114]. A mi vizsgálatunkban a jobb túlélés háttérében állhatott az, hogy nők esetében szignifikánsan gyakrabban végezték el a primer tumor eltávolítását, ami a multivariáns analízisben független prognosztikai tényezőnek bizonyult.

5.1.2.2 Életkor

Az agyi áttéttel rendelkező betegek vizsgálata során az életkor ellentmondásos prognosztikai tényezőnek bizonyult. Az életkor a teljes kohorszban uni- és multivariáns vizsgálattal nem bizonyult túlélést befolyásoló elemnek, azonban az operált primer tumoros esetekben a fiatalabb életkor hosszabb teljes túléléssel járt. Ezzel szemben, ahol már inoperábilis daganat került felfedezésre és nem történt meg a primer tumor eltávolítása, ott a fiatal életkor rossz prognosztikai tényezőnek bizonyult. NSCLC-re vonatkozóan a legtöbb vizsgálat szerint a fiatalabb életkor egyértelműen jó prognosztikai faktor [106, 108-111, 115], újabb kutatások SCLC esetén is hasonló következtetést vontak le. [116-118]. Ennek háttérében a fiatal korban ritkábban kialakuló posztoperatív szövődmények is állhatnak [119]. A vizsgálatunkban észlelhető ellentét feloldására magyarázat lehet, hogy az agyi áttétben szenvedő betegeknél a

fiatalabb korcsoportban nemritkán agresszívabb biológiai viselkedésű, gyorsabb proliferációjú és alacsonyabban differenciációt mutató daganatok észlelhetők [120].

5.1.2.3 Szöveti típusok

Munkánk során a kissejtes tüdőrákos betegek teljes túlélése szignifikánsan eltért mind az adenocarcinomás, mind a laphámrákos betegek túlélésétől, míg az adenocarcinoma és a laphámrák között nem volt jelentős különbség. Az irodalomban az agyi áttéttel rendelkező betegek túlélésére vonatkozó eredmények ellentmondásosak. Egyes tanulmányok szerint a daganat szövettani típusa alapvetően nem befolyásolja a túlélést [109, 110, 121]. Arrieta és munkatársai például az adenocarcinomás betegek adatait vetették össze a többi szövettani típussal, és nem találtak szignifikáns különbséget. Más vizsgálatok trendszerűen vagy szignifikánsan jobb túlélést tudtak igazolni adenocarcinomában [106, 107, 115]. Nieder és munkatársai szignifikáns különbséget találtak az egyes szövettani típusok között. Vizsgálatukban a legjobb prognózisú az adenocarcinoma volt, ezt követte a nagysejtes tüdőrák, majd a laphámrák. Ebbe a vizsgálatba ugyanakkor nem került bevonásra kissejtes tüdőrákos beteg [108]. Fontos kihangsúlyozni, hogy a fent említett kutatások többségében nem-kissejtes carcinomákat vizsgáltak, ezzel szemben a mi munkánkban SCLC betegek is nagy számban jelen voltak. A túlélésre vonatkozóan jelentős különbséget észleltünk az SCLC és az NSCLC csoport között, ugyanakkor az NSCLC két leggyakoribb típusa, az ADC és az SCC nem mutatott a túlélésben szignifikáns különbséget.

5.1.2.4 Stádium

Eredményeink alapján a betegek 62 %-a már diagnóziskor IV stádiumú betegségben szenvedett. A betegek 32 %-a már a tüdőrák felfedezésekor agyi áttéttel rendelkezett. A T stádium alacsonyabb volt nőkben és ADC esetén, míg az N stádium nagyobb volt centrális daganatoknál és SCLC-ben. Korábban már említettük a T és N stádiumok jelentőségét az agyi áttét kialakulásában. A betegség prognózisával kapcsolatban kimutattuk, hogy a stádium jelentősen befolyásolja a teljes túlélést; elsősorban az I stádiumban felfedezett betegség esetén jobb a túlélés. Az agyi áttét felfedezése után a túlélés szignifikánsan csak a diagnóziskor I stádiumú betegség esetén hosszabb. Eredményeink összhangban állnak az erre vonatkozó irodalmi adatokkal [109, 110]. Lind és munkatársai vizsgálatában a stádium nem volt prognosztikai értékű azon

betegeknél, ahol az agyi áttét lokális kezelésére csak a WBRT volt elvégezhető, míg azon esetekben, ahol műtét vagy sztereotaxiás besugárzás történt, a stádium befolyásolta a túlélést [111]. Collaud és munkatársai alacsony T stádium esetén észleltek hosszabb túlélést, de – ellentétben a mi vizsgálatunk eredményével - a nyirokcsomó státus abban a vizsgálatban nem volt prognosztikus értékű [121].

5.1.3 Onkoterápiák prognosztikai jelentősége

5.1.3.1 A primer tumor reszekciója

Vizsgálatunk során – uni- és multivariáns analízissel – a túlélést befolyásoló egyik legerősebb tényező a primer tumor reszekciója volt, amit a legtöbb kutatási eredmény is alátámaszt [106, 121]. Lind és munkatársai szerint a radikális mellkasi (sebészi és sugárterápiás) beavatkozások jelentős túlélést növelő tényezővé válnak szelektált betegcsoportban, szinkron agyi áttéttel rendelkező betegeknél [111]. Ezt a feltételezést támasztja alá vizsgálatunk eredménye is, amely szerint a primer tumor eltávolítása mellett a mellkasi radioterápia is független prognosztikai tényező. Úgy tűnik, hogy bár az agyi áttét megjelenése rontja a betegek túlélését, azonban az agyi áttéttel rendelkező betegek túlélését legnagyobb mértékben a primer tumor, illetve egyéb, extracranialis áttétek terápiás kontrollálhatósága határozza meg [108, 115]. Az extracranialis távoli áttétek prognózist rontó hatását számos kutatási eredmény bizonyítja [106-108, 115]. SCLC-re vonatkozó vizsgálatokban is akkor volt hosszabb a túlélés, ha nem volt extracranialis áttét, vagy minél kevesebb szerv volt érintett [116, 117]. Arrieta és munkatársai ezzel szemben nem találtak különbséget a túlélésben májáttét megjelenése esetén [110]. A primer tumor kontrollja mellett az agyi áttét kezelése is rendkívül fontos a túlélés növelésében, de önmagában nem elegendő. Vizsgálatunkban az agyi áttét műtéti eltávolítása független prognosztikai tényezőnek bizonyult multivariáns analízisben is. Ugyancsak ki tudtuk mutatni, hogy a sztereotaxiás koponya irradiáció növelte a túlélést, különösen akkor, ha WBRT is társult a kezeléshez. Az irodalomban több adatot is közöltek arra vonatkozólag, hogy a primer tumor és az agyi áttét együttes kontrollja növeli a túlélést [109, 111]. Lind és munkatársai szerint az agyműtéten vagy sztereotaxiás kezelésen átesett betegek esetén a primer tumor radikális kezelése szignifikánsan hosszabb túléléssel járt, mint a palliatív kezelés, továbbá kimutatták, hogy a palliatív kezelés hatásosabb a tüneti terápiánál. WBRT-t kapott betegcsoportnál

is kimutatható volt a palliatív kezelés terápiás hatékonysága a szupportációval szemben [111].

5.1.3.2 Kemoterápia és mellkasi irradiáció

Vizsgálatunkban a teljes túlélést - univariáns összehasonlításban - mind a kemoterápia, mind pedig a mellkasi irradiáció kedvezően befolyásolta, míg az agyi áttét felfedezése után a túlélést már csak a kemoterápia befolyásolta kedvezően. Más vizsgálatok is alátámasztják eredményeinket. Sanchez és munkatársai univariáns vizsgálatában a kemoterápia és a primer tumor rezekciója is jobb prognózissal járt, míg multivariáns vizsgálatban már csak a primer tumor eltávolítása volt független prognosztikai tényező [109]. Más szerzők külön vizsgálták a kemoterápiás szereket, valamint a tirozin-kináz inhibitorokat (TKI) [108]. Eredményeik szerint a pemetrexed, valamint a TKI terápia járt jobb prognózissal. Kohorszunkban kizárólag TKI kezelésben mindössze három beteg részesült, azonban túlélésük csak hetekben volt mérhető. Azon betegek ugyanakkor, akik a betegség lefolyása során hagyományos kemoterápiás és TKI kezelésben is részesültek, szignifikánsan jobb prognózisúak voltak, mint akik csak hagyományos citotoxikus kemoterápiát kaptak. Eredményeink ebből a szempontból nyilvánvalóan korlátozott értékűek, mivel a szövettani altípusokat illetően heterogén betegcsoportról van szó. Ráadásul a vizsgálat hosszú időintervalluma miatt olyan betegek is szerepelnek a kohorszban, akiknek daganatát 2006-ban diagnosztizálták. Ennek következtében az adenocarcinomás betegnek csak kis százalékában történt meg az EGFR mutáció vizsgálata, ráadásul az EGFR-TKI kezelés csak 2008 óta vált szélesebb körben hozzáférhetővé hazánkban. A szakirodalomban a tüdőműtéten átesett betegek esetében a mellkasi irradiáció és a kemoterápia túlélésre gyakorolt hatására vonatkozóan olyan adatok is közlésre kerültek, miszerint a túlélést sem a kemoterápia, sem a mellkasi irradiáció, de még a neoadjuváns kemoterápia sem befolyásolja [121].

5.1.4 Az agyi áttét multiplicitása, mérete és lokalizációja

Vizsgálatunk során a teljes betegcsoportban a multiplex áttétek rosszabb prognózissal jártak, mint a szoliterék, ellenben az agyi metasztázis lokalizációja és mérete nem befolyásolta a túlélést. A multiplicitás tekintetében a szakirodalomban a vizsgálók többsége hasonló következtetésre jutott [106, 111, 116, 117]. A metasztázisok mérete mások szerint sem prognosztikai faktor [109]. A lokalizációt illetően egyesek hasonlóképpen nem láttak túlélési különbséget az áttétek tentoriális lokalizációjában

[122], mások azonban infratentoriális áttétek esetén rövidebb túlélést igazoltak [106, 115]. A fossa posterior érintettsége leginkább a retrográd módon, a Batson vénás plexuson keresztül metasztatizáló daganatokra jellemző, mint például gastrointestinalis tumorok, vese-, hólyag-, méhtest- és prostatacarcinoma [8]. Habár a vizsgálatok többsége szerint tüdőrákban is leginkább az infratentoriális régió érintett [123], munkánk során döntő többségben supratentoriális daganatokkal talákoztunk. A szövettani típusok között nem volt ebben a tekintetben szignifikáns különbség, habár SCC esetén arányaiban több volt a supratentoriális áttét a többi altípussal szemben. Az agyba érkező tumorsejtek az agyi artériás ellátási területek határánál állnak meg és tapadnak ki, a leggyakrabban a szürke- és fehérállomány határánál [8]. A tüdőrákok agyi áttéteinek tentoriális lokalizációja kevésbé ismert. Kohorszunkban az áttétek 37,4%-a a fossa posteriorban helyezkedett el, amely életveszélyes szövődményekre vonatkozóan magas kockázatú régió. Vizsgálati adataink alapján a supratentoriális tumorok nagyobbak voltak az infratentoriális tumoroknál, ami részben azzal magyarázható, hogy az infratentoriális áttétek általában korán tünetet okoznak, így hamarabb kerülhetnek felfedezésre.

5.2 Az agyi áttétek klinikopatológiai jellemzői

Multiplex áttétek gyakrabban fordultak elő SCLC és alsó tüdőlebenyben elhelyezkedő primer tüdőrákok esetén. SCLC-ben kimutatták már, hogy az agyi áttétek gyakrabban jelennek meg többszörös formában [124], valamint egy vizsgálatban úgy találták, hogy a szoliter metasztázissal diagnosztizált betegek 73%-a 70 év feletti életkorú volt, míg a multiplex áttéttel rendelkező betegek között csak 24% volt idősebb, mint 70 év [125]. Kohorszunkban az SCLC betegek átlagéletkora 59,4 év volt. Az irodalmi adatok szerint elsőként vizsgáltuk az agyi áttétek méretét összefüggésben a tüdőrák altípusaival. Legnagyobb áttéteket a laphámrákok képezték, legkisebbeket pedig a kissejtes tüdőrákok. Kimutatható volt ugyanakkor, hogy SCLC esetén szignifikánsan több a multiplex metasztázis, és ezek kisebbek, mint a szoliter áttétek. SCC és ADC esetén – bár a két szövettani típusban ugyanolyan arányban volt multiplex áttét diagnosztizálható, mégis – szignifikáns különbség volt az áttétek mérete között az SCC javára. Ennek hátterében a daganatok különböző molekuláris biológiai

tulajdonságai állhatnak, eltérő lehet az egyes szövettani típusok carcinogenesis és angiogenesis, de különbözhet az agyi mikrokörnyezet, vagy akár a daganatok immunológiai tulajdonsága is.

5.3 Az agyi áttétek körül kialakuló peritumorális ödéma

A peritumorális agyödéma fontos szerepet játszik a neurológiai tünetek kialakulásában és jelentősen rontja a tüdőrákos betegek életminőségét. Ennek ellenére tüdőrák esetén keveset tudunk a gyakoriságáról, kiterjedéséről, klinikai következményéről, valamint a túlélésre gyakorolt hatásáról [126]. Betegcsoportunkban az agyi áttét reszekcióján átesettek körében a peritumorális ödéma jó prognosztikai tényezőnek bizonyult, amit részben magyarázhat, hogy ezen áttétek hamarabb okoztak neurológiai tüneteket, így korábban kerültek eltávolításra. Vizsgálatunkban a peritumorális ödéma elsősorban ADC-re és SCC-re volt jellemző. Áttéti daganatokban a peritumorális ödéma mértékét meghatározó kategóriákra vonatkozóan csak kevés adat áll rendelkezésre, így az általunk létrehozott kategóriák (nincs, 1-10 mm, >10mm) némileg önkényesnek tekinthetők. Manapság több kifinomultabb technika is rendelkezésre áll agyi ödéma mérésére, ilyen például az ödémás régiót több szeletben meghatározni és ezt 3 dimenzióban leképezni, mellyel lehetővé válik az ödémás terület térfogatának a kiszámolása. Ezen új módszerek meglehetősen időigényesek, különösen olyan nagy betegszám esetén, amilyen a mi kohorszunkban is szerepelt. Fontos kihangsúlyozni, hogy a célunk a jelen vizsgálatban nem az ödéma pontos megmérése volt, hanem a különböző szövettani típusú daganatok ödémaképző hajlamának kimutatása és ennek klinikopatológiai jelentőségének elemzése. Véleményünk szerint ennek a célkitűzésnek az általunk alkalmazott kategóriák megfeleltek. Ezt látszik alátámasztani az a tény, hogy hasonló peritumorális ödéma kategóriákat alkalmaztak számos korábbi tanulmányban gliómákban és meningeomákban is [127-129]. Ugyancsak egyszerű, egydimenziós mérési technikát alkalmaztak a peritumorális jel onkoterápiára történő változásának elemzésére primer központi idegrendszeri lymphomás betegekben, amit a kognitív funkciókkal hasonlítottak össze kezelés előtt és után [130]. A jövőben bizonyára történnek majd olyan vizsgálatok, ahol a tumorok permeabilitását figyelik majd dinamikus kontrasztosított MRI-vel, és leírják a különböző

permeabilitási paraméterek összefüggéseit a szövettani tulajdonságokkal és a peritumorális ödémával agyi áttétekben.

5.3.1 Peritumorális ödéma fiatal betegekben

Eredményeink alapján a peritumorális ödéma elsősorban a fiatal betegekre volt jellemző, idősebb betegcsoportban pedig elsősorban a nőkre. Tudomásunk szerint hasonló vizsgálat ezidáig még nem történt. További vizsgálatok szükségesek még a női nem szerepének meghatározására és a fiatal tüdőrákos betegekben megfigyelhető peritumorális agyödéma kialakulásának széleskörű tanulmányozására.

5.4 A metasztázálási idő jelentősége

Eredményeink alapján az agyi áttétek megjelenéséig átlagosan 7,8 hónap telt el. Ez az idő hosszabb volt alacsonyabb stádiumok, perifériás elhelyezkedésű primer daganatok, továbbá a primer tumor sebészi eltávolítása esetén. A szövettani altípusok közül adenocarcinomában és anaplastikus carcinomában esetén kellett korai áttéttel számolni, míg SCLC-ben szignifikánsan később alakultak ki agyi metasztázisok. Hasonló eredményt közöltek más kutatók is [131-137]. Az irodalmi adatok szerint az agyi áttétek legtöbbször az első két évben jelennek meg, de néhány munkacsoport, közöttük mi is, találtak későn kialakuló központi idegrendszeri áttéteket [131, 138, 139]. Kohorszunkban a betegek 8,5%-ában 2 éven túl jelent meg az agyi metasztázis.

Az irodalomban kevés információ áll rendelkezésre arra vonatkozóan, hogy tüdőrákok melyik szövettani típusa ad hamarabb központi idegrendszeri áttétet. SCLC esetén Schouten és munkatársai egy ötéves időszakot vizsgálva az agyi áttét kumulatív incidenciáját 29,7%-nak találták, ami NSCLC esetén mindössze 12,6% volt, ezzel jelezve a kissejtes tüdőrák magasabb agyi áttétképző hajlamát. Arról ugyanakkor kevés az irodalmi adat, hogy az első ötéves perióduson belül mikor várható a metasztázis megjelenése [140]. Kohorszunkban SCLC esetén később alakult ki áttét, mint a többi tüdőrák alcsoportban. Mivel munkánk során kizárólag a képalkotóval is megerősített agyi áttéteket vizsgáltunk, számos esetben az ilyen vizsgálatokra már neurológiai

panaszokkal jelentkező betegeknél került sor. Ennek tükrében érthető, hogy a tünetmentes áttétek sokkal később kerülhettek felfedezésre. Eredményeink azt mutatták, hogy SCLC esetén ritkábban alakul ki peritumorális ödéma, ami sok esetben felelőssé tehető a neurológiai tünetekért. Panaszmentes betegnél a kisebb, peritumorális ödémával nem rendelkező, esetleg multiplex áttétek is nehezebben kerülnek felismerésre. Meg kell említenünk, hogy Magyarországon a koponya MRI vizsgálat egyes helyeken nehezen hozzáférhető, így vélhetően számos tünetmentes áttét nem kerül időben leírásra. Az irodalmi adatok alapján SCLC esetén a primer tumor diagnózisakor 10%-ban már jelen van agyi metasztatizáció, míg a betegség lefolyása során 40-50%-ban fejlődik ki agyi érintettség [141]. Kurishima és munkatársai 6, kissejtes tüdőrákban szenvedő beteg adatait dolgozták fel, akiknél a betegség későbbi fázisában jelent meg agyi érintettség. Vizsgálatuk során megállapították, hogy az egy éven túli agyi áttét megjelenés a parciális-, vagy komplett remissziót mutató primer tumorok esetén lehet valószínűbb. Ezek a betegek jól reagáltak az agyi áttét irradiációs kezelésére. Feltételezéseik szerint az ilyen későn metasztatizáló daganatsejtek hosszabb alvó fázisba kerülhettek [141]. Korábban egy munkacsoport azt a CC3 tumorszuppresszor gént vizsgálta, amely nem volt kimutatható az erős metasztatizáló hajlamot mutató SCLC tumorokból készített sejtvonalakban. Ezen gén hiánya esetén a növekedési faktorok megvonására és kemoterápiás szerek hatására apoptózis következett be, ezzel feltételezve antiapoptotikus folyamatok jelenlétét a kissejtes tüdőrák agresszív formáiban [142].

Az adenocarcinoma és laphámrák eltérő metasztatizálási idejének háttéréről kevés adatot találunk az irodalomban. Ismeretes ugyanakkor, hogy míg az adenocarcinomák csoportja rendkívül változatos viselkedésű daganatokat foglal magába, és közülük számos esetben kisméretű primer tumor esetén is komoly rizikója van az agyi áttét korai kialakulásának, addig laphámrákoknál főként előrehaladott stádium esetén számíthatunk agyi áttét megjelenésére. Saját vizsgálataink eredménye is ezt a megfigyelést látszik alátámasztani.

Jelen munkánkban a metasztatizálási idő nem befolyásolta az agyi áttét felfedezése utáni túlélést. Habár erre vonatkozóan igen kevés az irodalmi adat, de Wronski és munkatársai sem találtak összefüggést – hasonlóan a mi eredményeinkhez [106].

5.5 A „brain only” tumorok jelentősége

A vizsgált betegpopulációnkban az agyi metasztázis mellett a betegek több mint 70%-ában lehetett nyirokcsomó áttétet is kimutatni. Eredményeink alapján a „brain only”, azaz nyirokcsomó áttét nélküli, agyi áttét a tüdőrákok csoportján belül egy olyan önálló klinikai entitás lehet, amelyet a primer tumor perifériás elhelyezkedése, késői és szoliter agyi áttét megjelenése, valamint hosszabb túlélés jellemez. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a magasabb N stádiumok, mint például a bulky mediastinalis nyirokcsomó áttétek, magasabb rizikót hordoznak az agyi áttét kialakulására [131, 136, 143]. Más tanulmányok során kisméretű, és potenciálisan kuratív terápia lehetőségű agyi metasztázist adó, daganatoknál a nyirokcsomó áttét jelenléte rövidebb túléléssel járt, mint annak hiánya [144].

A daganatsejtek az invázió során bekerülhetnek a nyirokerekbe, valamint a kis vénákat penetrálva a szisztémás keringésbe, így végső soron a lymphatikus keringés útján a daganatsejtek ugyancsak a vénás rendszerbe juthatnak. Ismert tény, hogy a nyirokerek – a vénákkal szemben – nem rendelkeznek szoros interendothelialis sejtkapcsolatokkal, sem pedig pericyta, vagy simaizom külső réteggel, illetve basalis membránnal. A nyirokkeringésben lassú az áramlás, így kisebb az esélye a mechanikai károsodásnak. Ezzel szemben a daganatsejtek közvetlen kapcsolatba kerülnek a nyirokrendszerben keringő immunsejtekkel. A vérerek fala nehezebben átjárható, a keringő tumorsejtek a szisztémás keringésben jelentős mechanikai károsító hatásnak vannak kitéve, ugyanakkor viszont a vérlemezkék aggregációjával könnyebben „bújhatnak” el az immunsejtek elől. A legtöbb közölt vizsgálatban a nyirokcsomó áttét megjelenése, illetve nagyobb száma, gyakrabban járt távoli áttétek kialakulásával [145]. A metasztasisképzésben többféle teória létezik. Egyes elképzelések szerint a daganatsejtek a regionális nyirokelvezető rendszeren keresztül nyirokcsomó metasztázisokat képeznek, melyek ezek után lehetővé teszik a további daganatos szóródást. Ezen metakrón metasztázisképzést bizonyítja az a kísérlet, amely során már meglévő nyirokcsomó áttét mellett – a primer tumor eltávolítását követően – később ugyanúgy megjelentek a hematogén metasztázisok [145]. Más feltételezések szerint a lymphatikus és hematogén áttétképzés párhuzamosan zajlik [145]. Mivel a carcinomák 20-40%-ában a csontvelőben kimutathatók daganatsejtek lymphatikus szóródás nélkül, így egyes

esetekben feltételezhető a hematogén szóródás elsődlegessége, különösen a „brain only” metasztázisok esetén [145].

Egy adenocarcinomás beteg esetismertetése kapcsán felmerült, hogy egészen apró primer tüdőtumorból is multiplex agyi áttétek jöhetnek létre, nyirokcsomók érintettsége nélkül. Ezen esetben az agyi áttétekből származó minta CK7 és TTF1 immunhisztokémiai pozitivitást mutatott és EGFR szenzitizáló mutáció (L858R) volt igazolható, ugyanakkor, a primer tumor mindössze apró lézióként, kicsiny tejüveghomály formájában volt felismerhető a bal felső lebenyben [146]. Később Sakai és munkatársai 18, klinikailag N0 NSCLC-s beteg adatait dolgozták fel, akik esetében a primer tumor $\leq T3$ stádiumú volt, a metasztázisok száma 5-nél kevesebb, egy, vagy maximum két szervet érintve [144]. A betegek 72%-ában agyi áttét volt kimutatható, azonban a kis esetszám miatt nem tudtak jelentős konklúziót levonni. A medián teljes túlélés 15,9 hónap volt és bár teljes gyógyulás ritkán volt elérhető, azonban voltak hosszan túlélők, elsősorban az EGFR szenzitizáló mutáció pozitív esetekben. Saját vizsgálatunkban 135 N0, azaz brain only esetet találtunk, és ezen betegek medián teljes túlélése 20 hónapnak bizonyult.

5.6 Szöveti markerek szerepe az agyi áttétképzésben

Az agyi áttétképződés az intenzív kutatások ellenére továbbra sem teljesen ismert folyamat. A daganatok hisztológiai tulajdonságai és azok agyi áttét kialakulására predisponáló jellemzői tüdőrákban nem kellően tisztázottak. Emlőrákban például bizonyos sejtfelszíni markerek, mint az nm23 és a CD44 előjelzői a távoli áttétek kifejlődésének [147]. Ugyancsak emlőrákban mutatták ki, hogy Her2 pozitivitás esetén gyakrabban kell agyi áttéttel számolni [148]. Munkacsoportunk egy korábbi tanulmányában már publikálta, hogy NSCLC-ben a CD44v6 és a caspase-9 emelkedett és a CAS fehérje csökkent expressziója magasabb agyi metasztatizálási rizikóval jár [47]. Ebben a vizsgálatban a tüdőrák szövettani altípusok nem lettek elkülönítve, éppen ezért jelen munkánk során ezt végeztük el [149]. Ennek eredményeképpen elsőként mutattuk ki, hogy a fent leírt eltérések elsősorban SCC-ben figyelhetők meg. Nemrég egy érdekes tanulmányban lobectomia során elemezték a különböző sorrendben

elvégzett arteriális és vénás lekötések hatását a CD44v6 mRNS expresszióra és a vérben kimutatható NSCLC mikrometasztázisokra [150]. Afify és munkatársai eredményei szerint tüdő ADC-ben a magasabb CD44v6 expresszió szignifikáns mértékben összefügg a primer tumor méretével és a nyirokcsomó áttétek megjelenésével [151]. A CD44v6 expresszió nyelőcső laphámrákban is korrelált a tumoros infiltráció mértékével és a metasztázisképzéssel [152].

Mivel a peritumorális ödéma pathomechanizmusáról kevés információnk van, ezért összehasonlítottuk a vizsgált potenciális biomarkerek expresszióját az áttétek körül kialakult peritumorális ödéma mértékével. Sawada és munkatársai immunhisztokémiai reakciókkal igazolták, hogy a különböző agytumoroknak eltérő az aquaporin-4 expressziója, habár csak a gliális tumorsejtek mutattak pozitív aquaporin-4 expressziót [153]. Egy másik vizsgálatban az aquaporin-4 magasabb mRNS és protein szintje jobb prognózissal járt együtt a jól differenciált tüdő ADC-kben [154]. Munkánkban SCC esetén a csökkent caspase-9 és a megemelkedett β -catenin és E-cadherin expresszió járt együtt szélesebb peritumorális ödémával. Az agyi metasztázisok szövetmintáiban ADC esetén nem találtunk ilyen markert, míg SCC esetén az alacsonyabb CD44v6 expresszió mutatott összefüggést a peritumorális ödémával. A CD44v6 funkciója többek között a sejt-sejt kapcsolódás szabályozása, így ennek agyi áttétben mutatott alacsonyabb expressziója felveti ezen kapcsolatok felbomlásának szerepét az ödémaképződésben.

Érdekes megfigyelésünk, hogy az SCC csoportban azon markerek mutattak pozitív összefüggést az agyi áttét kialakulásával, amelyek negatívan korreláltak a peritumorális ödéma szélességével; ilyen volt a CD44v6 és a caspase-9. Ezen eredmények magyarázatára és jelentőségének tanulmányozására további vizsgálatokat tervezünk.

Saijo és munkatársai immunhisztokémiai vizsgálatokkal kimutatták, hogy centrális SCC-ben szignifikánsan magasabb a CK-19 és az E-cadherin expresszió és alacsonyabb a CK-7 expresszió [103]. Eredményeik alapján a perifériás SCC bizonyos szöveti jegyeket illetően hasonlít az ADC-re, mivel sokkal inkább a glanduláris epithel sejtek jellemzőit viseli, szemben a centrális laphámrákokkal, amelyek inkább a bronchialis epitheliumra hasonlítanak.

A tanulmányozott biomarkerekre vonatkozóan elmondható, hogy elsőként mutattuk ki, hogy adenocarcinomában az emelkedett a cyclin D1, p27 és az EGFR protein

expresszió, míg a laphámrákban a növekedett topo-II α és csökkent caspase-9 expresszió mutatott összefüggést a dohányzással. Fontos azonban kihangsúlyozni, hogy a sosem dohányzottak aránya mindkét szövettani típusnál rendkívül alacsony volt, így statisztikailag szignifikáns eredmények óvatosan értékelendők. Ezzel együtt a dohányzás-caspase-9 expresszióval kapcsolatban megfigyelt összefüggés párhuzamba hozható Chen és munkatársai eredményeivel, akik kimutatták, hogy a cigarettafüsttel érintkező sejtvonalakban csökken a caspase-3 aktivitása, ami a tüdőrákos sejtek proliferációjához és daganatok növekedéséhez vezet [155].

A nemek és a vizsgált markerek összefüggésével kapcsolatban kevés irodalmi adat áll a rendelkezésünkre. Munkánk során adenocarcinómában csak a csökkent cyclin D1 expresszió mutatott szignifikáns összefüggést a női nemmel, míg a CD44v6 csökkenése közel szignifikáns értéket adott. ($p=0,0528$). Ezzel ellentétben, laphámrákban a megnövekedett p27, caspase-3 és caspase-9 expresszió volt gyakrabban kimutatható nőkben, az összefüggés erősen szignifikáns volt. Érdeemes megemlíteni, hogy a mi vizsgálatunkban a tüdő adenocarcinómában szenvedő nőkben kimutatott CD44v6 expresszió csökkenés ellentétes volt Vermeulen és munkatársainak emlőrákban végzett vizsgálatának eredményével, ahol az emlőrákos nőknél a CD44v6 expresszió magasabb volt, mint az emlőrákos férfiaknál [156].

5.7 A KRAS mutáció incidenciája és prognosztikai jelentősége távoli áttétet adó tüdő adenocarcinómában

Az intenzív transzlációs kutatások ellenére tüdőrákban a KRAS mutáció vizsgálatának helye és prognosztikai és/vagy prediktív értéke mindeztáig nem kellően tisztázott [59, 157-159]. Meglepően kevés adat lelhető fel az irodalomban a távoli áttétek lokalizációja és a KRAS mutáció jelenléte közötti lehetséges összefüggésekről [50].

Abban a vizsgálatunkban, amelynek csak egyes részeit tárgyaljuk részletesebben ebben a dolgozatban, a több szervet érintő távoli áttéttel, valamint egy szervet érintő metasztázissal rendelkező ADC betegeket tanulmányoztunk. Eredményeink alapján,

összhangban más vizsgálatok eredményével, szignifikáns medián túlélés csökkenés volt igazolható több szervet érintő távoli áttétképzés esetén [60, 160]. Ez az összefüggés tovább erősíti azt a felvetést, hogy a tüdőrák stádiummeghatározása során érdemes figyelembe venni a távoli metasztázisok helyét és annak számát is, hiszen az egy szervben megtalálható szoliter metasztázis szignifikánsan jobb túléléssel jár, mint a számos áttétel rendelkező, több szervet megbetegítő daganat [161]. A tüdőrák legújabb stádiumbeosztása már ilyen megfigyelések és vizsgálatok eredményein alapul [161].

A távoli áttétek szervi lokalizációjának vizsgálata alapján megállapíthattuk, hogy az agyi- és a pleurális áttétben szenvedőknél volt megfigyelhető a legrosszabb prognózis [60], és ezen eredmények összhangban vannak az irodalomban publikált adatokkal [162, 163].

A munkánk során detektált 28,6%-os KRAS mutáció korrelált más munkacsoportok eredményeivel [157, 164]. Vizsgálatunkban a több szervet érintő metasztázissal rendelkező betegnél a KRAS mutáció aránya csak kismértékben volt magasabb [60]. Tüdő adenocarcinomára vonatkozóan nincs irodalmi adat, azonban colorectalis carcinomában többszervi távoli áttét esetén magasabb a KRAS mutáció előfordulási aránya [165]. A szervspecifitást illetően Doebele és munkatársai hasonló KRAS mutáció incidenciát találtak agy-, csont- és mellékvese metasztázissal rendelkező NSCLC betegeknél [50]. A saját vizsgálatunkban a csontáttétes ADC betegeknél talált 28%-os KRAS mutáció gyakoriság megközelíti Confavreux és munkatársainak, valamint Bittner és munkatársainak eredményeit [60, 166, 167]. A pleurális- és májmetasztázisos betegek primer tumorában csökkent, míg az intrapulmonalis metasztázisokkal rendelkező esetekben emelkedett KRAS mutáció incidenciát találtunk [60]. Ezen összefüggéseket colorectalis carcinomás betegek tumormintáin is megfigyelték [165, 168-170]. Jelen munkánk során nem tapasztaltunk az agyi áttéttel rendelkező betegek mintái között magasabb KRAS mutáció gyakoriságot. Tüdő adenocarcinomában Tomasini és munkatársai szerint az agyi áttéttel rendelkező betegek körében a KRAS mutáció nem volt magasabb az átlagnál, ugyanakkor KRAS mutáció esetén kisebb volt a remisszió aránya, mint EGFR mutáció esetén [171]. Aktív onkoterápiában nem részesült agyi áttétes betegek esetében a teljes túlélés a KRAS mutáció pozitív esetekben rosszabb volt. Colorectalis carcinomában – ezzel ellentétben – agyi áttét kifejlődése esetén szignifikánsan magasabb KRAS mutáció gyakoriságot

mutattak ki [168]. Eredményeink alapján a KRAS mutáció jelenléte agyi metasztázisban szenvedő betegeknél nem vezetett különbséghez a túlélés tekintetében, ugyanakkor más munkacsoportok – ezzel ellentétben – rossz prognózist detektáltak KRAS mutáns ADC esetén [171, 172].

6. Következtetések

Munkánk során sikerült kialakítanunk a hazánkban eddigi legnagyobb, 575, agyi áttétet adott tüdőrákban szenvedő betegből álló kohorszt, ami számos vizsgálat elvégzését tette lehetővé.

1. Kimutattuk, hogy agyi áttét kialakulására elsősorban adenocarcinoma és kissejtes tüdőrák esetén kell számítani. Ugyancsak gyakrabban fordul elő agyi érintettség nőknél, fiatal (50 éves vagy fiatalabb) férfiaknál, továbbá centrális megjelenésű tüdőrák esetén. A lokalizációs adatokat tekintve elsők között publikáltuk ezen eredményeinket. Az agyi áttéttel rendelkező betegek prognózisában a primer tumor sebészi és irradiációs kezelése, valamint a szisztémás kemoterápia mellett az agyi áttét sebészi és irradiációs terápiája volt szignifikánsan kedvező tényező. Jó prognosztikai faktornak bizonyult továbbá a női nem, operált betegek esetén a fiatalabb életkor és az NSCLC szövettani altípus. Igazoltuk, hogy a centrális tüdőrákok esetén agresszívebb biológiai viselkedésű daganatok várhatók, amelyek hajlamosítanak a távoli áttétek megjelenésére, így az ilyen betegek szorosabb utánkövetése javasolható.
2. Munkánk során igazoltuk, hogy a „brain only”, azaz agyba metasztatizáló, de nyirokcsomó áttétet nem, vagy csak később adó daganatok külön entitásnak tarthatók, mivel prognózisuk szignifikánsan jobb. Ebben a csoportban több volt a perifériás primer tumor, és hosszabb volt mind az agyi metasztatizálási idő, mind pedig a teljes túlélés. Korai metasztatizálás elsősorban az adenocarcinomákra és a rosszul differenciált daganatokra volt jellemző, míg a kissejtes tüdőrák később adott áttétet, ugyanakkor ezek gyakrabban voltak multiplex megjelenésűek.
3. Az irodalomban elsőként jellemeztük nagy betegszámú tüdőrákos csoporton az agyi áttét körül kialakuló peritumorális ödémát, ami főként az adenocarcinomák és a laphámrákok esetén jelent meg, kissejtes tüdőrákban szignifikánsan ritkábban. Az ödéma mérete korrelált az agyi áttét méretével és annak tentoriális

agyi elhelyezkedésével. Prognosztikai jelentősége teljes túlélés tekintetében ezen heterogén betegcsoportban nem volt, azonban operált agyi áttétek esetén a szélesebb ödéma szignifikánsan jobb prognózissal bírt.

A továbbiakban primer tüdő-tumor-agyi metasztázis párok biomarker expresszióját vizsgáltuk.

Munkánk következő fázisában különböző, sejtproliferációt, sejt differenciációt, sejtadhéziót, DNS repair-t és apoptózist befolyásoló markereket mutattunk ki. Jelentős különbségeket igazoltunk tüdő adenocarcinoma és laphámrák között, ezzel is felhívva a figyelmet a szövettani altípusok szeparált vizsgálatának fontosságára. Adenocarcinoma és laphámrák esetén mind az agyi metasztázis adó primer tüdőrákban, mind pedig az agyi metasztázisban több biomarker eltérő expresszióját figyelhettük meg. Egyes markerek esetében igazoltuk a dohányzás és a nem jelentőségét a biomarker expresszióban. A peritumorális ödéma keveset vizsgált tényező tüdőrák agyi áttéteiben, munkánk során elsőként találtunk összefüggést az agyödéma nagysága és bizonyos szöveti biomarkerek expressziója között.

Végül adenocarcinomában szenvedő betegekből álló, relatíve homogén kohorsz klinikopatológiai adatait és tumor szövetmintáit elemeztük.

4. Ennek során az agyi áttétet adó daganatokban a KRAS mutáció incidenciáját összehangban találtuk az irodalmi adatokkal. Bár az agyi áttét önmagában kedvezőtlen prognosztikai faktornak tartható, a jelen betegpopulációban a KRAS mutáció prognosztikai szerepe nem igazolódott.

Munkánk során számos vizsgált klinikopatológiai tényezőről bebizonyosodott, hogy kapcsolatban áll az agyi áttétképzéssel. Tanulmányaink legfontosabb eredményei elősegíthetik azon betegek kiválasztását, akiknél szorosabb utánpótlás válhat szükségessé, illetve akiknél esetlegesen mérlegelendő preventív koponya irradiáció alkalmazása. Az elmúlt években a profilaktikus koponyairradiáció helye a terápiában kissejtes tüdőrák esetén jól meghatározottá vált, azonban más szövettani típusok esetén

pontos helye még körvonalazásra vár. Eredményeink alapján különösen a fiataloknál, a nőbetegeknél, a centrális adenocarcinómában szenvedőknél, valamint a nyirokcsomó áttétes daganatoknál indokolt az agyi áttétre vonatkozó szoros utánkövetés. Mivel a szoliter-, vagy az oligometasztatikus agyi áttétes esetek kedvezőbb prognosztikai csoportot képviselnek, így a stádiummeghatározások során törekedni kell a koponya CT helyett koponya MRI elvégzésére, ami a tünetmentes, apró áttéteket is könnyebben tudja azonosítani.

Tüdőrák esetében agyi áttét körül kialakuló peritumorális ödéma eredetére és prognosztikai jelentőségére vonatkozóan további átfogó vizsgálatok szükségesek, beleértve a különböző szöveti biomarkerek szerepének további tanulmányozását is.

7. Összefoglaló

A tüdőrák hazánkban és világviszonylatban is a vezető daganatos halálok. Kialakulásakor gyakran kell agyi áttét megjelenésével is számolni, ami jelentősen rontja a túlélést és a betegek életminőségét.

Vizsgáltuk 575, agyi áttéttel rendelkező tüdőrákos beteg klinikopatológiai adatait. Agyi áttét kialakulására elsősorban adenocarcinómában és kissejtes tüdőrákban kell számítani. Agyi érintettség gyakoribb volt nőknél, fiatal (≤ 50 év) férfiaknál és centrális tüdőrák esetén. Korai áttétképzés leginkább az adenocarcinómára volt jellemző. A peritumorális ödéma adenocarcinómára, supratentorialis áttétekre, nőkre és az 50 éves vagy fiatalabb betegekre volt jellemző. 135 betegnél N0 stádium melletti agyi érintettséget, „brain only” betegséget találtunk, ami esetén több volt a perifériás primer tumor, továbbá hosszabb volt az agyi metasztatizálási- és a teljes túlélési idő.

Következő munkánkban immunhisztokémiai módszerrel 52 adenocarcinomás ill. laphámrákos beteg tumormintáin (26 esetben primer tumor és az agyi áttét szöveti blokkjain is) vizsgáltuk a sejtdifferenciáció, a sejtadhézió, a sejtproliferáció, a sejtciklus szabályozás, a DNS replikáció és repair, valamint az apoptózis 29 főbb szöveti markereit. Adenocarcinómában az emelkedett kollagén XVII, laphámrákban pedig az emelkedett caspase-9 és CD44v6, valamint a csökkent cellular apoptosis susceptibility protein (CAS) és Ki-67 expresszió állt összefüggésben az agyi áttétképzéssel. A peritumorális ödéma méretével primer SCC esetén az emelkedett β -catenin, E-cadherin, a csökkent caspase-9, míg SCC agyi áttéteiben a csökkent CD44v6 mutatott korrelációt. Végül 500, tüdő adenocarcinómában szenvedő beteg szövetmintáin tanulmányoztuk a KRAS mutáció előfordulását és prognosztikai jelentőségét. 84 betegnél agyi áttét is kimutatható volt. Eredményeink alapján központi idegrendszeri érintettség esetén a KRAS mutáció incidenciája megegyezik a teljes populációban megfigyelttel és nincsen befolyása a túlélésre.

Eredményeink felhívják a figyelmet az agyi áttét magasabb rizikójára főként ADC-ben, nőknél, fiatal férfiaknál és centrális primer tumor esetében. Egyes immunhisztokémiai vizsgálatok elősegíthetik a fokozott agyi áttét rizikó és a peritumorális ödéma előrejelzését. Jelen vizsgálati kohorszunkban a KRAS mutáció nem bírt prognosztikai jelentőséggel.

8. Summary

Lung cancer is the leading cause of cancer death both in Hungary and worldwide. Brain metastasis is a very common complication of lung cancer and adversely affects overall survival and quality of life.

We retrospectively analyzed the clinicopathological and radiological data of 575 consecutive lung cancer patients with brain metastasis. Higher risk of brain metastasis development could be demonstrated in adenocarcinoma (ADC) and in small cell lung cancer (SCLC), in females, in younger male patients, and in case of central airway primary lung cancer. Peritumoral edema was significantly thicker in ADC, in supratentorial metastasis, in females and in younger patients (≤ 50 years). Early metastasis was characteristic for ADC. A total of 135 patients had “brain only” metastases (N0) characterized by peripheral lung cancer predominance, longer time to brain metastasis and longer overall survival.

Next, we investigated 29 tissue biomarkers in 52 non-small cell lung cancers (26 with matching brain metastatic tissue) including biomarkers of cell adhesion, cell growth, cell cycle, DNA repair, and apoptosis regulation. The aim of this study was to find indicators of brain metastasis and peritumoral edema, as well as to study the differences between ADC and squamous cell carcinoma (SCC). Increased collagen XVII in ADC, and increased caspase-9, CD44v6, and decreased cellular apoptosis susceptibility protein (CAS) and Ki-67 in SCC correlated significantly with brain metastasis development. Increased β -catenin, E-cadherin, and decreased caspase-9 expression in primary SCC, and decreased CD44v6 expression in brain metastatic SCC tissues showed a significant correlation with the extent of peritumoral edema.

Finally, we studied the effect of KRAS mutation on overall survival in metastatic site-specific lung ADC. As our main focus was on brain metastasis, this study included 84 patients out of the original 500 patients. We demonstrated that the KRAS mutation showed similar incidence in brain metastatic patients as compared to the whole population, and the KRAS mutation did not have an impact on overall survival.

In summary, higher brain metastasis risk could be demonstrated in ADC and SCLC, in females, in younger male patients, and in case of central airway primary lung cancer. We showed that immunohistochemical biomarkers might be helpful in predicting the risk of brain metastasis and peritumoral edema. In our present study the prognostic effect of KRAS was not proven.

9. Irodalomjegyzék

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. (2015) Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin*, 65(1): 5-29.
2. Wao H, Mhaskar R, Kumar A, Miladinovic B, Djulbegovic B. (2013) Survival of patients with non-small cell lung cancer without treatment: a systematic review and meta-analysis. *Syst Rev*, 2: 10.
3. Bakos Á, Böszörményi-Nagy G, Csoma Zs, Gaudi I, Herjavec I, Horváth I, Kovács G, Ostoros Gy, Szabó N, Zsarnóczay I. (2015) A pulmonológiai hálózat 2014. évi peidemiológiai és működési adatai. *Korányi Bulletin* 2015, 1: 36-46.
4. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JH, Beasley MB, Chirieac LR, Dacic S, Duhig E, Flieder DB, Geisinger K, Hirsch FR, Ishikawa Y, Kerr KM, Noguchi M, Pelosi G, Powell CA, Tsao MS, Wistuba I. (2015) The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol*, 10(9):1243-1260.
5. Mirsadraee S, Oswal D, Alizadeh Y, Caulo A, van Beek, Jr. E. (2012) The 7th lung cancer TNM classification and staging system: Review of the changes and implications. *World J Radiol*, 4(4): 128-134.
6. Böszörményi Nagy Gy, Csányi P, Csoma Zs, Gaudi I, Horváth I, Kovács G, Ostoros Gy, Zsarnóczay I. (2018) A pulmonológiai hálózat 2017. évi epidemiológiai adatai. *Korányi Bulletin* 2018, 1: 30-38.
7. Aragon-Ching JB, Zujewski JA. (2007) CNS metastasis: an old problem in a new guise. *Clin Cancer Res*, 13(6): 1644-1647.
8. Preusser M, Capper D, Ilhan-Mutlu A, Berghoff AS, Birner P, Bartsch R, Marosi C, Zielinski C, Mehta MP, Winkler F, Wick W, Von Deimling A. (2012) Brain metastases: Pathobiology and emerging targeted therapies. *Acta Neuropathol*, 123(2): 205-222.
9. Tabouret E, Chinot O, Metellus P, Tallet A, Viens P, Goncalves A. (2012) Recent trends in epidemiology of brain metastases: an overview. *Anticancer Res*, 2012. 32(11): p. 4655-4662.

10. Gerstner ER, Fine RL. (2007) Increased permeability of the blood-brain barrier to chemotherapy in metastatic brain tumors: establishing a treatment paradigm. *J Clin Oncol*, 25(16): 2306-2312.
11. Eichler AF, Chung E, Kodack DP, Loeffler JS, Fukumura D, Jain RK. (2011) The biology of brain metastases-translation to new therapies. *Nat Rev Clin Oncol*, 8(6): 344-356.
12. Barnholtz-Sloan JS, Sloan AE, Davis FG, Vigneau FD, Lai P, Sawaya RE. (2004) Incidence proportions of brain metastases in patients diagnosed (1973 to 2001) in the Metropolitan Detroit Cancer Surveillance System. *J Clin Oncol*, 22(14): 2865-2872.
13. Klos KJ, O'Neill BP. (2004) Brain metastases. *Neurologist*, 10(1): 31-46.
14. Ferrarese F, Baggio V, Zorat PL, Fiore D. (2006) Treatment and prophylaxis for brain metastases from non-small cell lung cancer: whole brain radiation treatment versus stereotactic radiosurgery. *Ann Oncol*, 17 Suppl 2: ii71-72.
15. Ba JL, Jandial R, Nesbit A, Badie B, Chen M. (2015) Current and emerging treatments for brain metastases. *Oncology (Williston Park)*, 29(4): 250-257.
16. Soffietti R, Ruda R, Trevisan E. (2008) Brain metastases: current management and new developments. *Curr Opin Oncol*, 20(6): 676-684.
17. Sperduto PW, Kased N, Roberge D, Xu Z, Shanley R, Luo X, Sneed PK, Chao ST, Weil RJ, Suh J, Bhatt A, Jensen AW, Brown PD, Shih HA, Kirkpatrick J, Gaspar LE, Fiveash JB, Chiang V, Knisely JP, Sperduto CM, Lin N, Mehta M. (2012) Summary report on the graded prognostic assessment: an accurate and facile diagnosis-specific tool to estimate survival for patients with brain metastases. *J Clin Oncol*, 30(4): 419-425.
18. Papadopoulos MC, Saadoun S, Binder DK, Manley GT, Krishna S, Verkman AS (2004) Molecular mechanisms of brain tumor edema. *Neuroscience*, 129(4): 1011-1020.
19. Engelhorn T, Savaskan NE, Schwarz MA, Kreutzer J, Meyer EP, Hahnen E, Ganslandt O, Dorfler A, Nimsky C, Buchfelder M, Eyupoglu IY. (2009) Cellular characterization of the peritumoral edema zone in malignant brain tumors. *Cancer Sci*, 100(10): 1856-1862.

20. Fidler IJ, Balasubramanian K, Lin QT, Kim SW, Kim SJ. (2010) The brain microenvironment and cancer metastasis. *Mol Cells*, 30(2): 93-98.
21. Saadoun S, Papadopoulos MC, Davies DC, Krishna S, Bell BA. (2002) Aquaporin-4 expression is increased in oedematous human brain tumours. *J Neurol Neurosurg Ps*, 72(2): 262-265.
22. Saadoun S, Papadopoulos MC, Davies DC, Bell BA, Krishna S. (2002) Increased aquaporin 1 water channel expression in human brain tumours. *Brit J Cancer*, 87(6): 621-623.
23. Ng WH, Hy JW, Tan WL, Liew D, Lim T, Ang BT, Ng I. (2009) Aquaporin-4 expression is increased in edematous meningiomas. *J Clin Neurosci*, 16(3): 441-443.
24. Wang P, Ni RY, Chen MN, Mou KJ, Mao Q, Liu YH. (2011) Expression of aquaporin-4 in human supratentorial meningiomas with peritumoral brain edema and correlation of VEGF with edema formation. *Genet Mol Res*, 10(3): 2165-2171.
25. Goldman CK, Bharara S, Palmer CA, Vitek J, Tsai K JC, Weiss HL, Gillespie GY. (1997) Brain edema in meningiomas is associated with increased vascular endothelial growth factor expression. *Neurosurgery*, 40(6): 1269-1277.
26. Carbonell WS, Ansorga O, Sibson N, Muschel R. (2009) The vascular basement membrane as "soil" in brain metastasis. *PLoS ONE* 4(6).
27. Bugyik E, Dezso K, Reiniger L, Laszlo V, Tovari J, Timar J, Nagy P, Klepetko W, Dome B, Paku S. (2011) Lack of angiogenesis in experimental brain metastases. *J Neuropathol Exp Neurol*, 70(11): 979-991.
28. Kirsch M, Schackert G, Black PM. (2000) Angiogenesis, metastasis, and endogenous inhibition. *J Neurooncol*, 50(1-2): 173-180.
29. Weidner N. (1998) Tumoural vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow. *J Pathol*, 184(2): 119-122.
30. Fidler IJ. (2011) The role of the organ microenvironment in brain metastasis. *Semin Cancer Biol*, 21(2): 107-112.
31. Long DM. (1979) Capillary ultrastructure in human metastatic brain tumors. *J Neurosurg*, 51(1): 53-58.

32. Shuto T, Matsunaga S, Inomori S, Fujino H. (2008) Efficacy of gamma knife surgery for control of peritumoral oedema associated with metastatic brain tumours. *J Neurol Neurosurg Ps*, 79(9): 1061-1065.
33. Spanberger T, Berghoff AS, Dinhof C, Ilhan-Mutlu A, Magerle M, Hutterer M, Pichler J, Wohrer A, Hackl M, Widhalm G, Hainfellner JA, Dieckmann K, Marosi C, Birner P, Prayer D, and Preusser M. (2013) Extent of peritumoral brain edema correlates with prognosis, tumoral growth pattern, HIF1a expression and angiogenic activity in patients with single brain metastases. *Clin Exp Metastasis*, 30(4): 357-368.
34. Wei GQ, He HD, Liu WP, Zhen HN, Zhao J, Li J, Han YD, Yang, Huan Y. (2005) MRI assessment of peritumoral brain edema in human astrocytomas: Correlation with angiogenesis biomarkers. *Riv Neuroradiol*, 18(1): 37-41.
35. Machein MR, Plate KH. (2000) VEGF in brain tumors. *J Neurooncol*, 50(1-2): 109-120.
36. Hubbs JL, Boyd JA, Hollis D, Chino JP, Saynak M, Kelsey CR. (2010) Factors associated with the development of brain metastases: analysis of 975 patients with early stage nonsmall cell lung cancer. *Cancer*, 116(21): 5038-5046.
37. Blanchard P, Le Pechoux C. (2010) Prophylactic cranial irradiation in lung cancer. *Curr Opin Oncol*, 22(2): 94-101.
38. Krzystanek M, Moldvay J, Szuts D, Szallasi Z, Eklund AC. (2016) A robust prognostic gene expression signature for early stage lung adenocarcinoma. *Biomark Res*, 4: 4.
39. Risch A, Plass C. (2008). Lung cancer epigenetics and genetics. *Int J Cancer*, 123(1): 1-7.
40. Girard L, Zochbauer-Muller S, Virmani AK, Gazdar AF, Minna JD. (2000) Genome-wide allelotyping of lung cancer identifies new regions of allelic loss, differences between small cell lung cancer and non-small cell lung cancer, and loci clustering. *Cancer Res*, 60(17): 4894-4906.
41. Osada H, Tatematsu Y, Yatabe Y, Horio Y, Takahashi T. (2005) ASH1 gene is a specific therapeutic target for lung cancers with neuroendocrine features. *Cancer Res*, 65(23): 10680-10685.

42. D'Amico TA, Aloia TA, Moore MB, Conlon DH, Herndon JE, 2nd, Kinch MS, Harpole DH, Jr. (2001) Predicting the sites of metastases from lung cancer using molecular biologic markers. *Ann Thorac Surg*, 72(4): 1144-1148.
43. Li Q, Wu H, Chen B, Hu G, Huang L, Qin K, Chen Y, Yuan X, Liao Z. (2012) SNPs in the TGF-beta signaling pathway are associated with increased risk of brain metastasis in patients with non-small-cell lung cancer. *PLoS One*, 7(12): e51713.
44. Li Q, Yang J, Yu Q, Wu H, Liu B, Xiong H, Hu G, Zhao J, Yuan X, Liao Z. (2013) Associations between Single-Nucleotide Polymorphisms in the PI3K-PTEN-AKT-mTOR Pathway and Increased Risk of Brain Metastasis in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*, 19(22): 6252-6260.
45. Saad RS, Liu YL, Han H, Landreneau LJ, Silverman JF. (2004) Prognostic significance of thyroid transcription factor-1 expression in both early-stage conventional adenocarcinoma and bronchioloalveolar carcinoma of the lung. *Hum Pathol*, 35(1): 3-7.
46. Moldvay J, Scheid P, Wild P, Nabil K, Siat J, Borrelly J, Marie B, Farre G, Labib T, Pottier G, Sesboue R, Bronner C, Vignaud JM, Martinet Y, Martinet N. (2000) Predictive survival markers in patients with surgically resected non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res*, 6(3): 1125-1134.
47. Papay J, Krenacs T, Moldvay J, Stelkovics E, Furak J, Molnar B, Kopper L. (2007) Immunophenotypic profiling of nonsmall cell lung cancer progression using the tissue microarray approach. *Appl Immunohisto M M*, 15(1): 19-30.
48. Singhal S, Vachani A, Antin-Ozerkis D, Kaiser LR, Albelda SM. (2005) Prognostic implications of cell cycle, apoptosis, and angiogenesis biomarkers in non-small cell lung cancer: a review. *Clin Cancer Res*, 11(11): 3974-3986.
49. Zhou X, Cai L, Liu J, Hua X, Zhang Y, Zhao H, Wang B, Li B, Gai P. (2018) Analyzing EGFR mutations and their association with clinicopathological characteristics and prognosis of patients with lung adenocarcinoma. *Oncol Lett*, 16(1): 362-370.
50. Doebele RC, Lu X, Sumey C, Maxson DA, Weickhardt AJ, Oton AB, Bunn PA, Jr., Baron AE, Franklin WA, Aisner DL, Varella-Garcia M, Camidge DR.

- (2012) Oncogene status predicts patterns of metastatic spread in treatment-naive nonsmall cell lung cancer. *Cancer*, 118(18): 4502-4511.
51. Burel-Vandenbos F, Ambrosetti D, Coutts M, Pedeutour F. (2013) EGFR mutation status in brain metastases of non-small cell lung carcinoma. *J Neurooncol*, 111(1): 1-10.
 52. Midha A, Dearden S, McCormack R. (2015) EGFR mutation incidence in non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology: a systematic review and global map by ethnicity (mutMapII). *Am J Cancer Res*, 5(9): 2892-2911.
 53. Lohinai Z, Hoda MA, Fabian K, Ostoros G, Raso E, Barbai T, Timar J, Kovalszky I, Cserepes M, Rozsas A, Laszlo V, Grusch M, Berger W, Klepetko W, Moldvay J, Dome B, Hegedus B. (2015) Distinct Epidemiology and Clinical Consequence of Classic Versus Rare EGFR Mutations in Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*, 10(5): 738-746.
 54. Wee P, Wang Z. (2017) Epidermal Growth Factor Receptor Cell Proliferation Signaling Pathways. *Cancers (Basel)*, 9(5).
 55. Li XX, Li RJ, Zhao LJ, Liu NB, Wang P. (2015) Expression of molecular factors correlated with metastasis in small cell lung cancer and their significance. *Int J Clin Exp Pathol*, 8(11): 14676-14684.
 56. Eichler AF, Kahle KT, Wang DL, Joshi VA, Willers H, Engelman JA, Lynch TJ, Sequist LV. (2010) EGFR mutation status and survival after diagnosis of brain metastasis in nonsmall cell lung cancer. *Neuro Oncol*, 12(11): 1193-1199.
 57. Heon S, Yeap BY, Britt GJ, Costa DB, Rabin MS, Jackman DM, Johnson BE. (2010) Development of central nervous system metastases in patients with advanced non-small cell lung cancer and somatic EGFR mutations treated with gefitinib or erlotinib. *Clin Cancer Res*, 16(23): 5873-5882.
 58. Sekine A, Kato T, Hagiwara E, Shinohara T, Komagata T, Iwasawa T, Satoh H, Tamura K, Kasamatsu T, Hayashihara K, Saito T, Takahashi H, Ogura T. (2012) Metastatic brain tumors from non-small cell lung cancer with EGFR mutations: distinguishing influence of exon 19 deletion on radiographic features. *Lung Cancer*, 77(1): 64-69.
 59. Cserepes M, Ostoros G, Lohinai Z, Raso E, Barbai T, Timar J, Rozsas A, Moldvay J, Kovalszky I, Fabian K, Gyulai M, Ghanim B, Laszlo V, Klikovits T,

- Hoda MA, Grusch M, Berger W, Klepetko W, Hegedus B, Dome B. (2014) Subtype-specific KRAS mutations in advanced lung adenocarcinoma: a retrospective study of patients treated with platinum-based chemotherapy. *Eur J Cancer*, 50(10): 1819-1828.
60. Lohinai Z, Klikovits T, Moldvay J, Ostoros G, Raso E, Timar J, Fabian K, Kovalszky I, Kenessey I, Aigner C, Renyi-Vamos F, Klepetko W, Dome B, Hegedus B. (2017) KRAS-mutation incidence and prognostic value are metastatic site-specific in lung adenocarcinoma: poor prognosis in patients with KRAS mutation and bone metastasis. *Sci Rep*,7: 39721.
61. Guerin A, Sasane M, Zhang J, Culver KW, Dea K, Nitulescu R, Wu EQ. (2015) Brain metastases in patients with ALK+ non-small cell lung cancer: clinical symptoms, treatment patterns and economic burden. *J Med Econ*, 18(4): 312-322.
62. Toyokawa G, Seto T, Takenoyama M, Ichinose Y. (2015) Insights into brain metastasis in patients with ALK+ lung cancer: is the brain truly a sanctuary? *Cancer Metastasis Rev*, 34(4): 797-805.
63. Johung KL, Yeh N, Desai NB, Williams TM, Lautenschlaeger T, Arvold ND, Ning MS, Attia A, Lovly CM, Goldberg S, Beal K, Yu JB, Kavanagh BD, Chiang VL, Camidge DR, Contessa JN. (2016) Extended Survival and Prognostic Factors for Patients With ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer and Brain Metastasis. *J Clin Oncol*, 34(2): 123-129.
64. Rau KM, Chen HK, Shiu LY, Chao TL, Lo YP, Wang CC, Lin MC, Huang CC. (2016) Discordance of Mutation Statuses of Epidermal Growth Factor Receptor and K-ras between Primary Adenocarcinoma of Lung and Brain Metastasis. *Int J Mol Sci*, 17(4): 524.
65. Krencz I, Sebestyen A, Fabian K, Mark A, Moldvay J, Khor A, Kopper L, Papay J. (2017) Expression of mTORC1/2-related proteins in primary and brain metastatic lung adenocarcinoma. *Hum Pathol*, 62: 66-73.
66. Teglassi V, Reiniger L, Fabian K, Pipek O, Csala I, Bago AG, Varallyay P, Vizkeleti L, Rojko L, Timar J, Dome B, Szallasi Z, Swanton C, Moldvay J. (2017) Evaluating the significance of density, localization, and PD-1/PD-L1 immunopositivity of mononuclear cells in the clinical course of lung

- adenocarcinoma patients with brain metastasis. *Neuro Oncol*, 144 (7): 1219-1226.
67. Ding L, Lu Z, Lu Q, Chen YH. (2013) The claudin family of proteins in human malignancy: a clinical perspective. *Cancer Manag Res*, 5: 367-375.
 68. Papadopoulos MC, Saadoun S, Woodrow CJ, Davies DC, Costa-Martins P, Moss RF, Krishna S, Bell BA. (2001) Occludin expression in microvessels of neoplastic and non-neoplastic human brain. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 27(5): 384-395.
 69. Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S, Tsukita S. (1993) Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol*, 123(6 Pt 2): 1777-1788.
 70. Furuse M, Tsukita S. (2006) Claudins in occluding junctions of humans and flies. *Trends Cell Biol*, 16(4): 181-188.
 71. Martin-Padura I, Lostaglio S, Schneemann M, Williams L, Romano M, Fruscella P, Panzeri C, Stoppacciaro A, Ruco L, Villa A, Simmons D, Dejana E. (1998) Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol*, 142(1): 117-127.
 72. Wolburg H, Lippoldt A. (2002) Tight junctions of the blood-brain barrier: development, composition and regulation. *Vascul Pharmacol*, 38(6): 323-337.
 73. Liebner S, Fischmann A, Rascher G, Duffner F, Grote EH, Kalbacher H, Wolburg H. (2000) Claudin-1 and claudin-5 expression and tight junction morphology are altered in blood vessels of human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol*, 100(3): 323-331.
 74. Rascher G, Fischmann A, Kroger S, Duffner F, Grote EH, Wolburg H. (2002) Extracellular matrix and the blood-brain barrier in glioblastoma multiforme: spatial segregation of tenascin and agrin. *Acta Neuropathol*, 104(1): 85-91.
 75. Shibata S (1989) Ultrastructure of capillary walls in human brain tumors. *Acta Neuropathol*, 78(6): 561-571.
 76. Wolburg H, Wolburg-Buchholz K, Kraus J, Rascher-Eggstein G, Liebner S, Hamm S, Duffner F, Grote EH, Risau W, Engelhardt B. (2003) Localization of claudin-3 in tight junctions of the blood-brain barrier is selectively lost during

- experimental autoimmune encephalomyelitis and human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol*, 105(6): 586-592.
77. Runkle EA, Mu D. (2013) Tight junction proteins: from barrier to tumorigenesis. *Cancer Lett*, 337(1): 41-48.
 78. Dhawan P, Singh AB, Deane NG, No Y, Shiou SR, Schmidt C, Neff J, Washington MK, Beauchamp RD. (2005) Claudin-1 regulates cellular transformation and metastatic behavior in colon cancer. *J Clin Invest*, 115(7): 1765-1776.
 79. Chao YC, Pan SH, Yang SC, Yu SL, Che TF, Lin CW, Tsai MS, Chang GC, Wu CH, Wu YY, Lee YC, Hong TM, Yang PC. (2009) Claudin-1 Is a Metastasis Suppressor and Correlates with Clinical Outcome in Lung Adenocarcinoma. *Am J Resp Crit Care*, 179(2): 123-133.
 80. Michl P, Barth C, Buchholz M, Lerch MM, Rolke M, Holzmann KH, Menke A, Fensterer H, Giehl K, Lohr M, Leder G, Iwamura T, Adler G, Gress TM. (2003) Claudin-4 expression decreases invasiveness and metastatic potential of pancreatic cancer. *Cancer Res*, 63(19): 6265-6271.
 81. Rangel LB, Agarwal R, D'Souza T, Pizer ES, Alo PL, Lancaster WD, Gregoire L, Schwartz DR, Cho KR, Morin PJ. (2003) Tight junction proteins claudin-3 and claudin-4 are frequently overexpressed in ovarian cancer but not in ovarian cystadenomas. *Clin Cancer Res*, 9(7): 2567-2575.
 82. Kominsky SL, Argani P, Korz D, Evron E, Raman V, Garrett E, Rein A, Sauter G, Kallioniemi OP, Sukumar S. (2003) Loss of the tight junction protein claudin-7 correlates with histological grade in both ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncogene*, 22(13): 2021-2033.
 83. Dhawan P, Ahmad R, Chaturvedi R, Smith JJ, Midha R, Mittal MK, Krishnan M, Chen X, Eschrich S, Yeatman TJ, Harris RC, Washington MK, Wilson KT, Beauchamp RD, Singh AB. (2011) Claudin-2 expression increases tumorigenicity of colon cancer cells: role of epidermal growth factor receptor activation. *Oncogene*, 30(29): 3234-3247.
 84. Moldvay J, Jackel M, Paska C, Soltesz I, Schaff Z, Kiss A. (2007) Distinct claudin expression profile in histologic subtypes of lung cancer. *Lung Cancer*, 7(2): 159-167.

85. Moldvay J, Fabian K, Jackel M, Nemeth Z, Bogos K, Furak J, Tizslavicz L, Fillinger J, Dome B, Schaff Z. (2017) Claudin-1 Protein Expression Is a Good Prognostic Factor in Non-Small Cell Lung Cancer, but only in Squamous Cell Carcinoma Cases. *Pathol Oncol Res*, 23(1): 151-156.
86. Shang S, Hua F, Hu ZW. (2017) The regulation of beta-catenin activity and function in cancer: therapeutic opportunities. *Oncotarget*, 8(20): 33972-33989.
87. Kato Y, Hirano T, Yoshida K, Yashima K, Akimoto S, Tsuji K, Ohira T, Tsuboi M, Ikeda N, Ebihara Y, Kato H. (2005) Frequent loss of E-cadherin and/or catenins in intrabronchial lesions during carcinogenesis of the bronchial epithelium. *Lung Cancer*, 48(3): 323-330.
88. Awaya H, Takeshima Y, Amatya VJ, Ishida H, Yamasaki M, Kohno N, Inai K. (2005) Loss of expression of E-cadherin and beta-catenin is associated with progression of pulmonary adenocarcinoma. *Pathol Int*, 55(1): 14-18.
89. Bremnes RM, Veve R, Hirsch FR, Franklin WA. (2002) The E-cadherin cell-cell adhesion complex and lung cancer invasion, metastasis, and prognosis. *Lung Cancer*, 36(2): 115-124.
90. Walko G, Castanon MJ, Wiche G. (2015) Molecular architecture and function of the hemidesmosome. *Cell Tissue Res*, 360(3): 529-544.
91. Franzke CW, Tasanen K, Schumann H, Bruckner-Tuderman L. (2003) Collagenous transmembrane proteins: collagen XVII as a prototype. *Matrix Biol*, 22(4): 299-309.
92. Senbanjo LT, Chellaiah MA. (2017) CD44: A Multifunctional Cell Surface Adhesion Receptor Is a Regulator of Progression and Metastasis of Cancer Cells. *Front Cell Dev Biol*, 5: 18.
93. Szatmari T, Mundt F, Kumar-Singh A, Mobus L, Otvos R, Hjerpe A, Dobra K. (2017) Molecular targets and signaling pathways regulated by nuclear translocation of syndecan-1. *BMC Cell Biol*, 18(1): 34.
94. Toyoshima E, Ohsaki Y, Nishigaki Y, Fujimoto Y, Kohgo Y, Kikuchi K. (2001) Expression of syndecan-1 is common in human lung cancers independent of expression of epidermal growth factor receptor. *Lung Cancer*, 31(2-3): 193-202.
95. Linnerth NM, Sirbovan K, Moorehead RA. (2005) Use of a transgenic mouse model to identify markers of human lung tumors. *Int J Cancer*, 114(6): 977-982.

96. Berghoff AS, Ilhan-Mutlu A, Wohrer A, Hackl M, Widhalm G, Hainfellner JA, Dieckmann K, Melchardt T, Dome B, Heinzl H, Birner P, Preusser M. (2014) Prognostic significance of Ki67 proliferation index, HIF1 alpha index and microvascular density in patients with non-small cell lung cancer brain metastases. *Strahlenther Onkol*, 190(7): 676-685.
97. Brooks DR, Austin JH, Heelan RT, Ginsberg MS, Shin V, Olson SH, Muscat JE, Stellman SD. (2005) Influence of type of cigarette on peripheral versus central lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 14(3): 576-581.
98. Malara NM, Sgambato A, Granone P, Flamini G, Margaritora S, Boninsegna A, Cesario A, Galetta D, Yang Q, Cittadini A. (1999) Biological characterization of central and peripheral primary non small cell lung cancers (NSCLC). *Anticancer Res*, 19(3B): 2249-2252.
99. Moon Y, Lee KY, Sung SW, Park JK. (2016) Differing histopathology and prognosis in pulmonary adenocarcinoma at central and peripheral locations. *J Thorac Dis*, 8(1): 169-177.
100. Sun W, Yang X, Liu Y, Yuan Y, Lin D. (2017) Primary Tumor Location Is a Useful Predictor for Lymph Node Metastasis and Prognosis in Lung Adenocarcinoma. *Clin Lung Cancer*, 18(1): e49-e55.
101. Ito M, Yamashita Y, Miyata Y, Ohara M, Tsutani Y, Ikeda T, Misumi K, Harada H, Omori K. (2012) Prognostic impact of the primary tumor location based on the hilar structures in non-small cell lung cancer with mediastinal lymph node metastasis. *Lung Cancer*, 76(1): 93-97.
102. Yatabe Y, Kosaka T, Takahashi T, Mitsudomi T. (2005) EGFR mutation is specific for terminal respiratory unit type adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*, 29(5): 633-639.
103. Saijo T, Ishii G, Nagai K, Funai K, Nitadori J, Tsuta K, Nara M, Hishida T, Ochiai A. (2006) Differences in clinicopathological and biological features between central-type and peripheral-type squamous cell carcinoma of the lung. *Lung Cancer*, 52(1): 37-45.
104. Sakurai H, Asamura H, Watanabe S, Suzuki K, Tsuchiya R. (2004) Clinicopathologic features of peripheral squamous cell carcinoma of the lung. *Ann Thorac Surg*, 78(1): 222-227.

105. <http://www.koranyi.hu/tartalom/bulletin/Evkonyv2006.pdf>.
106. Wronski M, Arbit E, Burt M, Galicich JH. (1995) Survival after surgical treatment of brain metastases from lung cancer: a follow-up study of 231 patients treated between 1976 and 1991. *J Neurosurg*, 83(4): 605-616.
107. Sakamoto J, Sonobe M, Kobayashi M, Ishikawa M, Kikuchi R, Nakajima D, Yamada T, Nakayama E, Takahashi T, Sato T, Chen F, Bando T, Date H. (2014) Prognostic factors for patients in postoperative brain metastases from surgically resected non-small cell lung cancer. *Int J Clin Oncol*, 19(1): 50-56.
108. Nieder C, Grosu AL, Marienhagen K, Andratschke NH, Geinitz H. (2012) Non-small cell lung cancer histological subtype has prognostic impact in patients with brain metastases. *Med Oncol*, 29(4): 2664-2668.
109. Sanchez de Cos J, Sojo Gonzalez MA, Montero MV, Perez Calvo MC, Vicente MJ, Valle MH. (2009) Non-small cell lung cancer and silent brain metastasis. Survival and prognostic factors. *Lung Cancer*, 63(1): 140-145.
110. Arrieta O, Saavedra-Perez D, Kuri R, Aviles-Salas A, Martinez L, Mendoza-Posada D, Castillo P, Astorga A, Guzman E, De la Garza J. (2009) Brain metastasis development and poor survival associated with carcinoembryonic antigen (CEA) level in advanced non-small cell lung cancer: a prospective analysis. *BMC Cancer*, 9: 119.
111. Lind JSW, Lagerwaard FJ, Smit EF, Postmus PE, Slotman BJ, Senan S. (2011) Time for reappraisal of extracranial treatment options? Synchronous brain metastases from nonsmall cell lung cancer. *Cancer*, 117(3): 597-605.
112. Chlebowski RT, Palomares MR, Lillington L, Grosvenor M. (1996) Recent implications of weight loss in lung cancer management. *Nutrition*, 12(1): S43-S47.
113. Henschke CI, Yip R, Miettinen OS. (2006) Women's susceptibility to tobacco carcinogens and survival after diagnosis of lung cancer. *Jama*, 296(2): 180-184.
114. Wakelee HA, Wang W, Schiller JH, Langer CJ, Sandler AB, Belani CP, Johnson DH. (2006) Survival Differences by Sex for Patients with Advanced Non-small Cell Lung Cancer on Eastern Cooperative Oncology Group Trial 1594. *J Thorac Oncol*, 1(5): 441-446.

115. Villarreal-Garza C, de la Mata D, Zavala DG, Macedo-Perez EO, Arrieta O. (2013) Aggressive Treatment of Primary Tumor in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer and Exclusively Brain Metastases. *Clin Lung Cancer*, 14(1)-6-13.
116. Bohlen G, Meyners T, Kieckebusch S, Lohynska R, Veninga T, Stalpers LJ, Schild SE, Rades D. (2010) Short-course whole-brain radiotherapy (WBRT) for brain metastases due to small-cell lung cancer (SCLC). *Clin Neurol Neurosurg*, 112(3): 183-187.
117. Gerdan L, Segedin B, Veninga T, Schild SE, Rades D. (2013) Number of involved extracranial organs predicts survival in patients with brain metastasis from small cell lung cancer. *Anticancer Res*, 33(9): 3887-3889.
118. Bremnes RM, Sundstrom S, Aasebø U, Kaasa S, Hatlevoll R, Aamdal S. (2003) The value of prognostic factors in small cell lung cancer: results from a randomised multicenter study with minimum 5 year follow-up. *Lung Cancer*, 39(3): 303-313.
119. Subramanian J, Morgensztern D, Goodgame B, Bagstrom MQ, Gao F, Piccirillo J, Govindan R. (2010) Distinctive characteristics of non-small cell lung cancer (NSCLC) in the young: a surveillance, epidemiology, and end results (SEER) analysis. *J Thorac Oncol*, 5(1): 23-28.
120. Moldvay J, Strausz J. (2009) Clinicopathologic characteristics of lung cancer in patients 45 years of age or younger. *Eur Resp J*, (22 (suppl. 45)).
121. Collaud S, Stahel R, Inci I, Hillinger S, Schneiter D, Kestenholz P, Weder W. (2012) Survival of patients treated surgically for synchronous single-organ metastatic NSCLC and advanced pathologic TN stage. *Lung Cancer*, 78(3): 234-238.
122. Jacot W, Quantin X, Boher JM, Andre F, Moreau L, Gainet M, Depierre A, Quoix E, Chevalier TL, Pujol JL. (2001) Brain metastases at the time of presentation of non-small cell lung cancer: a multi-centric AERIO analysis of prognostic factors. *Br J Cancer*, 84(7): 903-909.
123. Takano K, Kinoshita M, Takagaki M, Sakai M, Tateishi S, Achiha T, Hirayama R, Nishino K, Uchida J, Kumagai T, Okami J, Kawaguchi A, Hashimoto N, Nakanishi K, Imamura F, Higashiyama M, Yoshimine T. (2016) Different

- spatial distributions of brain metastases from lung cancer by histological subtype and mutation status of epidermal growth factor receptor. *Neuro Oncol*, 18(5): 716-724.
124. Nussbaum ES, Djalilian HR, Cho KH, Hall WA. (1996) Brain metastases. Histology, multiplicity, surgery, and survival. *Cancer*, 78(8): 1781-1788.
 125. Seute T, Leffers P, ten Velde GP, Twijnstra A. (2008) Detection of brain metastases from small cell lung cancer: consequences of changing imaging techniques (CT versus MRI). *Cancer*, 112(8): 1827-1834.
 126. Wick W, Kuker W. (2004) Brain edema in neurooncology: radiological assessment and management. *Onkologie*, 27(3): 261-266.
 127. Schoenegger K, Oberndorfer S, Wuschitz B, Struhal W, Hainfellner J, Prayer D, Heinzl H, Lahrman H, Marosi C, Grisold W. (2009) Peritumoral edema on MRI at initial diagnosis: An independent prognostic factor for glioblastoma? *Eur J Neurol*, 16(7): 874-878.
 128. Wu CX, Lin GS, Lin ZX, Zhang JD, Liu SY, Zhou CF. (2015) Peritumoral edema shown by MRI predicts poor clinical outcome in glioblastoma. *World J Surg Oncol*, 13: 97.
 129. Mantle RE, Lach B, Delgado MR, Baesa S, Belanger G. (1999) Predicting the probability of meningioma recurrence based on the quantity of peritumoral brain edema on computerized tomography scanning. *J Neurosurg*, 91(3): 375-383.
 130. Neuwelt EA, Guastadisegni PE, Varallyay P, Doolittle ND. (2005) Imaging changes and cognitive outcome in primary CNS lymphoma after enhanced chemotherapy delivery. *AJNR Am J Neuroradiol*, 26(2): 258-265.
 131. Ceresoli GL, Reni M, Chiesa G, Carretta A, Schipani S, Passoni P, Bolognesi A, Zannini P, Villa E. (2002). Brain metastases in locally advanced nonsmall cell lung carcinoma after multimodality treatment: risk factors analysis. *Cancer*, 95(3): 605-612.
 132. Chen AM, Jahan TM, Jablons DM, Garcia J, Larson DA. (2007) Risk of cerebral metastases and neurological death after pathological complete response to neoadjuvant therapy for locally advanced nonsmall-cell lung cancer: clinical implications for the subsequent management of the brain. *Cancer*, 109(8): 1668-1675.

133. Carolan H, Sun AY, Bezjak A, Yi QL, Payne D, Kane G, Waldron J, Leighl N, Feld R, Burkes R, Keshavjee S, Shepherd F. (2005) Does the incidence and outcome of brain metastases in locally advanced non-small cell lung cancer justify prophylactic cranial irradiation or early detection? *Lung Cancer*, 49(1): 109-115.
134. Saad AG, Yeap BY, Thunnissen FB, Pinkus GS, Pinkus JL, Loda M, Sugarbaker DJ, Johnson BE, Chirieac LR. (2008) Immunohistochemical markers associated with brain metastases in patients with nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer*, 113(8): 2129-2138.
135. Law A, Karp DD, Dipetrillo T, Daly BT. (2001) Emergence of increased cerebral metastasis after high-dose preoperative radiotherapy with chemotherapy in patients with locally advanced nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer*, 92(1): 160-164.
136. Robnett TJ, Machtay M, Stevenson JP, Algazy KM, Hahn SM. (2001) Factors affecting the risk of brain metastases after definitive chemoradiation for locally advanced non-small-cell lung carcinoma. *J Clin Oncol*, 19(5): 1344-1349.
137. Won YW, Joo J, Yun T, Lee GK, Han JY, Kim HT, Lee JS, Kim MS, Lee JM, Lee HS, Zo JI, Kim S. (2015) A nomogram to predict brain metastasis as the first relapse in curatively resected non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer*, 88(2): 201-207.
138. Martini N, Kris MG, Flehinger BJ, Gralla RJ, Bains MS, Burt ME, Heelan R, McCormack PM, Pisters KM, Rigas JR, Rush VW, Ginsberg RJ. (1993) Preoperative chemotherapy for stage IIIa (N2) lung cancer: the Sloan-Kettering experience with 136 patients. *Ann Thorac Surg*, 55(6): 1365-1373; discussion 1373-1374.
139. Stuschke M, Eberhardt W, Pottgen C, Stamatis G, Wilke H, Stuben G, Stoblen F, Wilhelm HH, Menker H, Teschler H, Muller RD, Budach V, Seeber S, Sack H. (1999) Prophylactic cranial irradiation in locally advanced non-small-cell lung cancer after multimodality treatment: long-term follow-up and investigations of late neuropsychologic effects. *J Clin Oncol*, 17(9): 2700-2709.

140. Schouten LJ, Rutten J, Huveneers HA, Twijnstra A. (2002) Incidence of brain metastases in a cohort of patients with carcinoma of the breast, colon, kidney, and lung and melanoma. *Cancer*, 94(10): 2698-2705.
141. Kurishima K, Homma S, Kagohashi K, Miyazaki K, Kawaguchi M, Satoh H, Hizawa N. (2014) Brain metastasis as an isolated late recurrence in small-cell lung cancer. *Mol Clin Oncol*, 2(2): 305-307.
142. Shtivelman E. (1997) A link between metastasis and resistance to apoptosis of variant small cell lung carcinoma. *Oncogene*, 14(18): 2167-2173.
143. Gore E. (2006) Prophylactic cranial irradiation versus observation in stage III non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*, 7(4): 276-278.
144. Sakai K, Takeda M, Hayashi H, Tanaka K, Okuda T, Kato A, Nishimura Y, Mitsudomi T, Koyama A, Nakagawa K. (2016) Clinical outcome of node-negative oligometastatic non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer*, 7(6): 670-675.
145. Wong SY, Hynes RO. (2006) Lymphatic or hematogenous dissemination: How does a metastatic tumor cell decide? *Cell Cycle*, 5(8): 812-817.
146. Kobayashi T, Takeda M, Marumo S, Koshimo Y, Teranishi T, Higami Y, Kato M. (2013) Long-term gefitinib treatment of occult lung carcinoma with multiple brain metastases. *Lung Cancer*, 80(1): 109-111.
147. Guo L, Fan D, Zhang F, Price JE, Lee JS, Marchetti D, Fidler IJ, Langley RR. (2011) Selection of brain metastasis-initiating breast cancer cells determined by growth on hard agar. *Am J Pathol*, 178(5): 2357-2366.
148. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MC, Voduc D, Speers CH, Nielsen TO, Gelmon K. (2010). Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J Clin Oncol*, 28(20): 3271-3277.
149. Fabian K, Nemeth Z, Furak J, Tizslavicz L, Papay J, Krenacs T, Timar J, Moldvay J. (2014) Protein expression differences between lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma with brain metastasis. *Anticancer Res*, 34(10): 5593-5597.
150. Song PP, Zhang W, Zhang B, Liu Q, Du J (2013) Effects of different sequences of pulmonary artery and vein ligations during pulmonary lobectomy on blood micrometastasis of non-small cell lung cancer. *Oncol Lett*, 5(2): 463-468.

151. Afify AM, Tate S, Durbin-Johnson B, Rocke DM, Konia J. (2011) Expression of CD44s and CD44v6 in lung cancer and their correlation with prognostic factors. *Int J Biol Markers*, 26(1): 50-57.
152. Shen WD, Ji Y, Liu PF, Xiang B, Chen GQ, Huang B, Wu S. (2012) Correlation of E-cadherin and CD44v6 expression with clinical pathology in esophageal carcinoma. *Mol Med Rep*, 5(3): 817-821.
153. Sawada T, Kato Y, Kobayashi M. (2007) Expression of aquaporine-4 in central nervous system tumors. *Brain Tumor Pathol*, 24(2): 81-84.
154. Warth A, Muley T, Meister M, Herpel E, Pathil A, Hoffmann H, Schnabel PA, Bender C, Bunnemann A, Schirmacher P, Kuner R. (2011) Loss of aquaporin-4 expression and putative function in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer*, 11: 161.
155. Chen GG, Lee TW, Xu H, Yip JH, Li M, Mok TS, Yim AP. (2008) Increased inducible nitric oxide synthase in lung carcinoma of smokers. *Cancer*, 112(2): 372-381.
156. Vermeulen JF, Kornegoor R, van der Wall E, van der Groep P, van Diest PJ. (2013) Differential expression of growth factor receptors and membrane-bound tumor markers for imaging in male and female breast cancer. *PLoS One*, 8(1): e53353.
157. Martin P, Leighl NB, Tsao MS, Shepherd FA. (2013) KRAS mutations as prognostic and predictive markers in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 8(5): 530-542.
158. Mascaux C, Iannino N, Martin B, Paesmans M, Berghmans T, Dusart M, Haller A, Lothaire P, Meert AP, Noel S, Lafitte JJ, Sculier JP. (2005) The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer*, 92(1): 131-139.
159. Levy BP, Chioda MD, Herndon D, Longshore JW, Mohamed M, Ou SH, Reynolds C, Singh J, Wistuba II, Bunn PA, Jr., Hirsch FR. (2015) Molecular Testing for Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer: How to Implement Evidence-Based Recommendations. *Oncologist*, 20(10): 1175-1181.
160. He YY, Zhang XC, Yang JJ, Niu FY, Zeng Z, Yan HH, Xu CR, Guan JL, Zhong WZ, Yang LL, Guo LH, Wu JL. (2014) Prognostic significance of genotype and

- number of metastatic sites in advanced non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*, 15(6): 441-447.
161. Eberhardt WE, Mitchell A, Crowley J, Kondo H, Kim YT, Turrisi A, 3rd, Goldstraw P, Rami-Porta R. (2015) The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the M Descriptors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*, 10(11): 1515-1522.
 162. Langer CJ, Mehta MP. (2005) Current management of brain metastases, with a focus on systemic options. *J Clin Oncol*, 23(25): 6207-6219.
 163. Kepka L, Cieslak E, Bujko K, Fijuth J, Wierzchowski M. (2005) Results of the whole-brain radiotherapy for patients with brain metastases from lung cancer: the RTOG RPA intra-classes analysis. *Acta Oncol*, 44(4): 389-398.
 164. Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC, Goddard AD, Heldens SL, Herbst RS, Ince WL, Janne PA, Januario T, Johnson DH, Klein P, Miller VA, Ostland MA, Ramies DA, Sebisanoovic D, Stinson JA, Zhang YR, Seshagiri S, Hillan KJ. (2005) Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol*, 23(25): 5900-5909.
 165. Modest DP, Stintzing S, Laubender RP, Neumann J, Jung A, Giessen C, Haas M, Aubele P, Schulz C, Boeck S, Stemmler HJ, Kirchner T, Heinemann V. (2011) Clinical characterization of patients with metastatic colorectal cancer depending on the KRAS status. *Anticancer Drugs*, 22(9): 913-918.
 166. Confavreux CB, Girard N, Pialat JB, Bringuier PP, Devouassoux-Shisheboran M, Rousseau JC, Isaac S, Thivolet-Bejui F, Clezardin P, Brevet M. (2014) Mutational profiling of bone metastases from lung adenocarcinoma: results of a prospective study (POUMOS-TEC). *Bonekey Rep*, 3: 580.
 167. Bittner N, Baliko Z, Sarosi V, Laszlo T, Toth E, Kasler M, Geczi L. (2015) Bone Metastases and the EGFR and KRAS Mutation Status in Lung Adenocarcinoma--The Results of Three Year Retrospective Analysis. *Pathol Oncol Res*, 21(4): 1217-1221.

168. Yaeger R, Cowell E, Chou JF, Gewirtz AN, Borsu L, Vakiani E, Solit DB, Rosen N, Capanu M, Ladanyi M, Kemeny N. (2015) RAS mutations affect pattern of metastatic spread and increase propensity for brain metastasis in colorectal cancer. *Cancer*, 121(8): 1195-1203.
169. Schweiger T, Hegedus B, Nikolowsky C, Hegedus Z, Szirtes I, Mair R, Birner P, Dome B, Lang G, Klepetko W, Ankersmit HJ, Hoetzenecker K.(2014) EGFR, BRAF and KRAS status in patients undergoing pulmonary metastasectomy from primary colorectal carcinoma: a prospective follow-up study. *Ann Surg Oncol*, 21(3): 946-954.
170. Tsunoda A, Iijima T, Tsunoda Y, Nakao K, Miyaki M, Kusano M. (2004) Association of K-ras mutations with liver metastases from colorectal carcinoma. *Anticancer Res*, 24(4): 2471-2476.
171. Tomasini P, Serdjebi C, Khobta N, Metellus P, Ouafik L, Nanni I, Greillier L, Loundou A, Fina F, Mascaux C, Barlesi F. (2016) EGFR and KRAS Mutations Predict the Incidence and Outcome of Brain Metastases in Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Mol Sci*, 17(12). pii:E2132.
172. Parikh NR, Likhacheva A, Pinnix C, Allen PK, Prabhu SS, Guha-Thakurta N, Welsh JW, Brown PD, Chang EL. (2015) Prognostic significance of EGFR and KRAS mutations in NSCLC patients with brain metastases treated with radiosurgery(dagger). *J Radiosurg SBRT*, 3(3): 171-178.

10. Saját publikációk jegyzéke

A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

Fabian K, Gyulai M, Furak J, Varallyay P, Jackel M, Bogos K, Dome B, Papay J, Timar J, Szallasi Z, Moldvay J

Significance of Primary Tumor Location and Histology for Brain Metastasis Development and Peritumoral Brain Edema in Lung Cancer.

ONCOLOGY 91:(5) pp. 237-242. (2016) (IF: 2,262)

Fábián K, Németh Zs, Furák J, Tiszlavicz L, Pápay J, Krenács T, Tímár J, Moldvay J

Protein expression differences between lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma with brain metastasis

ANTICANCER RESEARCH 34:(10) pp. 5593-5597. (2014) (IF: 1,826)

Lohinai Z, Klikovits T, Moldvay J, Ostoros G, Raso E, Tímár J, Fábián K, Kovalszky I, Kenessey I, Aigner C, Rényi-Vámos F, Klepetko W, Dome B, Hegedűs B

KRAS-mutation incidence and prognostic value are metastatic site-specific in lung adenocarcinoma: poor prognosis in patients with KRAS-mutation and bone metastasis

SCIENTIFIC REPORTS 7: Paper 39721. 8 p. (2017) (IF:4,122)

További publikációk

Klikovits, Lohinai Z, Fábián K, Gyulai M, Szilasi M, Marga J, Baranya E, Pipiek O, Csabai I, Szállási Z, Tímár J, Hoda AM, Laszlo V, Hegedűs B, Rényi-Vámos F, Klepetko W, Ostoros Gy, Döme B, Moldvay J

New insight into the impact of primary lung adenocarcinoma location on metastatic sites and sequence: A multicenter cohort study

LUNG CANCER, 126 pp. 139-148. 10 p. (2018) (IF: 4,486 (2017))

Fabian K, Puskas R, Kakuk T, Pres L, Fejes D, Szegedi Z, Rojko L, Szallasi Z, Dome B, Pipek O, Moldvay J

Renal Impairment Hampers Bisphosphonate Treatment in a Quarter of Lung Cancer Patients with Bone Metastasis

***BASIC & CLINICAL PHARMACOLOGY & TOXICOLOGY* 122:(1)** pp. 126-132. (2018) (IF: 2,659 (2017))

Rojko L, Reiniger L, Teglassi V, Fabian K, Pipek O, Vagvolgyi A, Agocs L, Fillinger J, Kajdacsi Z, Timar J, Dome B, Szallasi Z, Moldvay J

Chemotherapy treatment is associated with altered PD-L1 expression in lung cancer patients.

***JOURNAL OF CANCER RESEARCH AND CLINICAL ONCOLOGY* 144:(7)** pp. 1219-1226. (2018) IIF: 3,282 (2017))

Krencz I, Sebestyén A, Fabian K, Mark A, Moldvay J, Khor A, Kopper L, Papay J

Expression of mTORC1/2-related proteins in primary and brain metastatic lung adenocarcinoma.

***HUMAN PATHOLOGY* 62:** pp. 66-73. (2017) (IF: 3,125)

Moldvay J, Fábián K, Jäckel M, Németh Z, Bogos K, Furák J, Tizslavicz L, Fillinger J, Döme B, Schaff Z

Claudin-1 Protein Expression Is a Good Prognostic Factor in Non-Small Cell Lung Cancer, but only in Squamous Cell Carcinoma Cases

***PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH* 23:(1)** pp. 151-156. (2017) (IF: 1,935)

Teglassi V, Reiniger L, Fabian K, Pipek O, Csala I, Bago AG, Varallyai P, Vizkeleti L, Rojko L, Timar J, Dome B, Szallasi Z, Swanton C, Moldvay J

Evaluating the significance of density, localization, and PD-1/PD-L1 immunopositivity of mononuclear cells in the clinical course of lung adenocarcinoma patients with brain metastasis.

***NEURO-ONCOLOGY* 19:(8)** pp. 1058-1067. (2017) (IF: 9,384)

Lohinai Z, Hoda MA, Fabian K, Ostoros G, Raso E, Barbai T, Timar J, Kovalszky I, Cserepes M, Rozsas A, Laszlo V, Grusch M, Berger W, Klepetko W, Moldvay J, Dome B, Hegedus B

Distinct epidemiology and clinical consequence of classic versus rare EGFR mutations in lung adenocarcinoma.

JOURNAL OF THORACIC ONCOLOGY 10:(5) pp. 738-746. (2015) (IF: 5,040)

Moldvay J, Rokszin Gy, Abonyi-Tóth Zs, Katona L, Fábián K, Kovács G

Lung cancer drug therapy in Hungary - 3-year experience

ONCOTARGETS AND THERAPY 8: pp. 1031-1038. (2015) (IF: 2,272)

Moldvay J, Szallasi Z, Puskas R, Komaromi T, Fabian K, Kovalszky I, Papay J

Bone Metastasis with Histology Different from The Primary Lung Cancer and The Skin Metastasis

TRANSLATIONAL BIOIMEDICINE 6:(2) Paper 16. 3 p. (2015) (IF:0)

Podmaniczky E, Fábián K, Pápay J, Puskás R, Gyulai M, Furák J, Tizslavicz L, Losonczy Gy, Tímár J, Moldvay J

Decreased ERCC1 expression after platinum-based neoadjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer

PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 21:(2) pp. 423-431. (2015) (IF: 1,940)

Cserepes M, Ostoros G, Lohinai Z, Raso E, Barbai T, Timar J, Rozsas A, Moldvay J, Kovalszky I, Fabian K, Gyulai M, Ghanim B, Laszlo V, Klikovits T, Hoda MA, Grusch M, Berger W, Klepetko W, Hegedus B, Dome B

Subtype-specific KRAS mutations in advanced lung adenocarcinoma: A retrospective study of patients treated with platinum-based chemotherapy

EUROPEAN JOURNAL OF CANCER 50:(10) pp. 1819-1828. (2014) (IF: 5,417)

Fábián K, Furák J, Gyulai M, Jackel M, Várallyay P, Pápay J, Losonczy Gy, Moldvay J
Agyi áttétet adó tüdőrákok klinikopatológiai analízise

MEDICINA THORACALIS (BUDAPEST) 66:(3) pp. 106-112. (2013) (IF: 0)

Fábián K, Moldvay J

Az agyi áttétek körül kialakuló peritumorális ödéma jelentősége a tüdőrákban

MEDICINA THORACALIS (BUDAPEST) **65**:(1) pp. 17-25. (2012) (IF: 0)

11. Köszönetnyilvánítás

PhD munkám során több intézet munkájában és számos projektben aktívan vehettem részt. Szeretnék köszönetet mondani mindezért témavezetőmnek és mentoromnak, Dr. Moldvay Juditnak, aki kezdetben a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján, majd az Országos Korányi Pulmonológiai Intézetben segítette munkámat. Köszönöm mindkét Intézet vezetőjének, Prof. Losonczy Györgynek és Dr. Kovács Gábornak a támogatását.

Nagy öröm és lehetőség volt számomra Campus Hungary Ösztöndíj keretében a Bécsi Orvostudományi Egyetem Rákkutató Központjában a Mellkassebészeti Tanszék laboratóriumában 6 hónapon át kutatómunkát végezni. Itteni és későbbi munkámban is nagy segítséget nyújtott Dr. Döme Balázs és Dr. Hegedűs Balázs. Közös munkánkat megköszönöm Dr. Lohinai Zoltánnak és a laboratórium összes dolgozójának.

Külön köszönettel tartozom, hogy a Nemzeti Agykutatási Program munkájában részt vehettem, és így együtt dolgozhattam Dr. Szállási Zoltánnal, Dr. Reiniger Lillával, Dr. Téglási Vandával, Dr. Bagó Attilával és Pipek Orsolyával.

Köszönetemet szeretném kifejezni a Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetéből Prof. Kovalszky Ilonának, Dr. Krenács Tibornak és Dr. Pápay Juditnak, valamint a II. sz. Patológiai Intézetből Prof. Schaff Zsuzsannának, Prof. Tímár Józsefnek és Prof. Rásó Erzsébetnek.

A tumormintákért és a szövettani blokkokért köszönettel tartozom az Országos Korányi Pulmonológiai Intézet Mellkassebészeti Osztályán Prof. Vadász Pálnak és Munkatársainak, a Patológiai Osztályon Dr. Fillinger Jánosnak és Munkatársainak, valamint a Szegedi Tudományegyetem Sebészeti Klinikáján Dr. Furák Józsefnek és Munkatársainak, a Patológiai Intézetében pedig Dr. Tiszlavicz Lászlónak és Munkatársainak.

Köszönöm megtisztelő együttműködését és segítségét valamennyi társszerzőnknek, elsősorban Dr. Jäckel Mártának, Dr. Várallyay Péternek és Dr. Gyulai Mártonnak.

Munkámat nagymértékben segítette a Magyar Klinikai Onkológiai Társaság kutatási pályázata 2012-ben, valamint a Magyar Pulmonológiai Alapítvány kutatási pályázata 2017-ben.

Végül, de nem utolsó sorban, köszönöm a családomnak a támogatást.