

Daganatok szövettani és molekuláris patológiai diagnosztikája

Dr. Szőke János

Országos Onkológiai Intézet

Daganatpatológiai Központ

Budapest, 2018. szeptember 28.



Patológia

- EU
 - Boncolás/Autopszia
 - **Szövettan/Sebészeti patológia**
 - Citopatológia
 - Molekuláris patológia
- US
 - AP – Anatomic pathology
 - Boncolás/Autopszia
 - **Sebészeti patológia/Szövettan**
 - Citopatológia
 - CP – Clinical pathology
 - Laboratóriumi kémia
 - Mikrobiológia
 - Transzfúzió
 - Molekuláris patológia

2

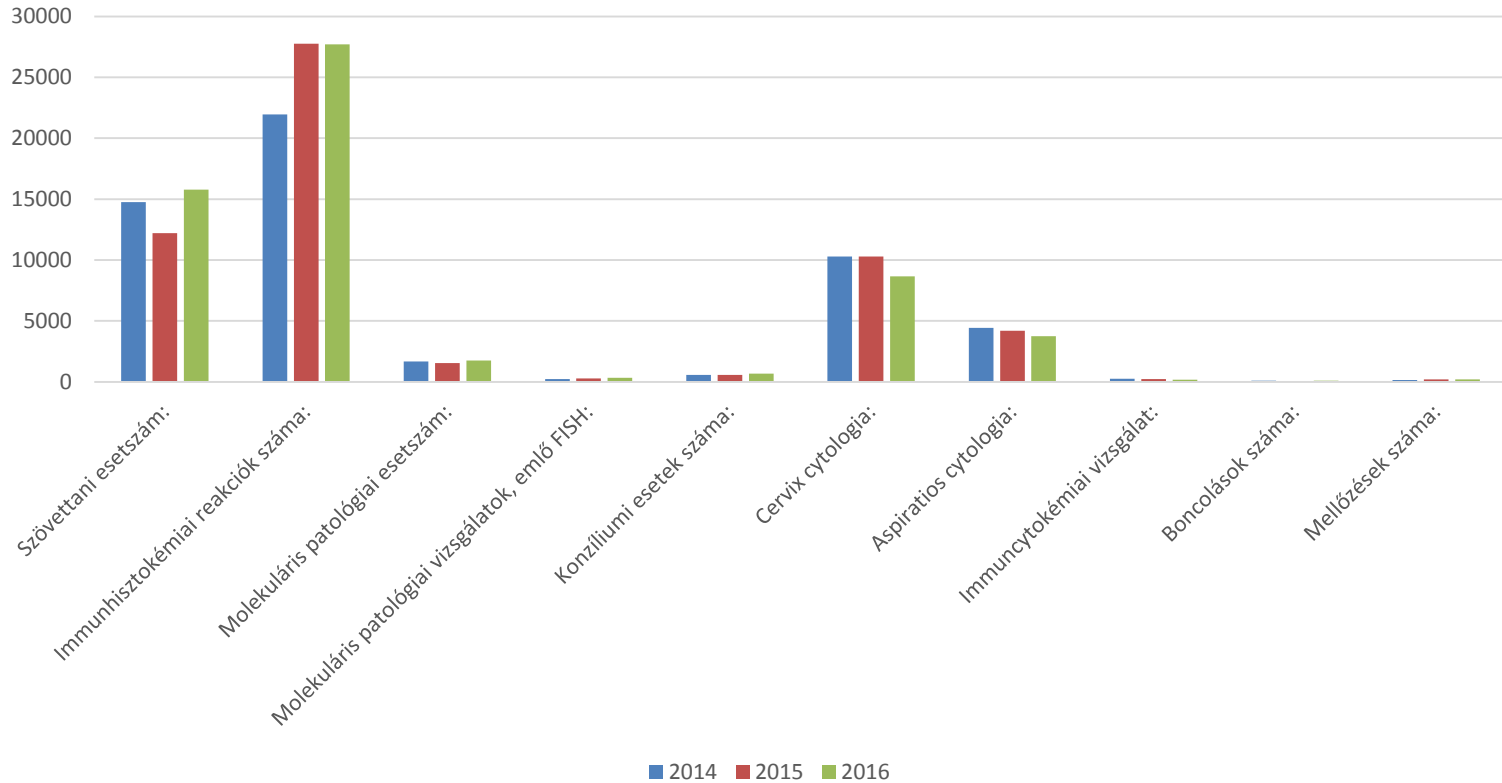
ANTHONY A. GAL



PLATE 1. (A) The many interactions of pathology with clinical and basic sciences. (B) The many interactions of surgical pathology with clinical and research disciplines. (C) Microscope. Front cover from *Common objects of the microscope*, by Reverend J. G. Wood, 1864. (D) Petals, pollen, seeds, and starch. Color plate III from *Common objects of the microscope*, by Reverend J. G. Wood, 1864. (E) Histochemical stains. Bottles of histochemical stains currently used in a modern surgical pathology laboratory. (F) Leaves of logwood. Hematoxylin is derived from the heartwood of the logwood tree (*Haematoxylum campechianum*). (Reprinted from Dan Skean, <http://www.abdn.edu/biol/skean/haemcapg.htm>)

Advances in Anatomic Pathology, Vol. 8, No. 1, January, 2001

Patológiai diagnosztikus tevékenységek az OOI-ben



Patológiai diagnosztikus tevékenység:	2014	2015	2016
Szövetteni esetszám:	14763	12210	15788
Immunhisztokémiai reakciók száma:	21941	27759	27707
Molekuláris patológiai esetszám:	1683	1554	1752
Molekuláris patológiai vizsgálatok, emlő FISH:	222	287	322
Konzíliumi esetek száma:	565	578	689
Cervix cytologia:	10278	10278	8661
Aspiratios cytologia:	4423	4202	3752
Immuncytokémiai vizsgálat:	246	220	175
Boncolások száma:	96	74	94
Mellőzések száma:	150	201	195

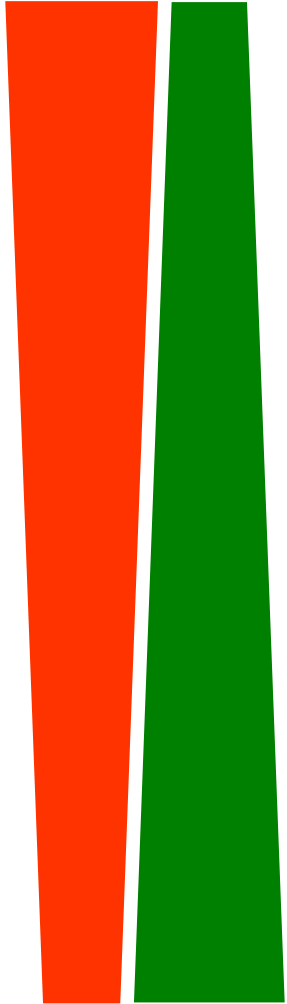
A patológiai diagnosztika szerepe az onkológiában

- **A patológiai diagnosztika morfológiai alapú**
 - Kiegészítő immunhisztokémiai/molekuláris vizsgálatok
- **Cél: a beteget kezelő orvos(ok)nak információt szolgáltatni**
 - Kezelési mód megválasztását és várható hatékonyságát (*prediktív markerek*) illetően:
 - Sebészi
 - Sugárterápia
 - Gyógyszeres
 - Hagyományos kemoterápia
 - *Célzott terápia*
 - Prognózisra vonatkozóan (*prognosztikus markerek*): a **TNM Stádium** még mindig az egyik leglényegesebb faktor



Diagnosztikus eljárások

Dg



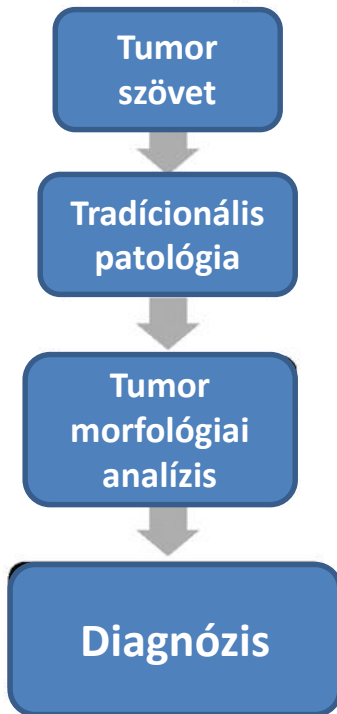
- **„Preoperatív”**
 - Citológia
 - Biopszia (hisztológia – sebészeti patológia)
- **Intraoperatív**
 - Fagyasztott metszet
 - Citológia
 - Kiegészítő vizsgálatokra anyag biztosítása
- **Postoperatív**
 - Reszekciós minták sebészeti patológiai feldolgozása
 - Kiegészítő vizsgálatok (EM, IHC, molekuláris patológia)
- **Post mortem**
 - Autopsia



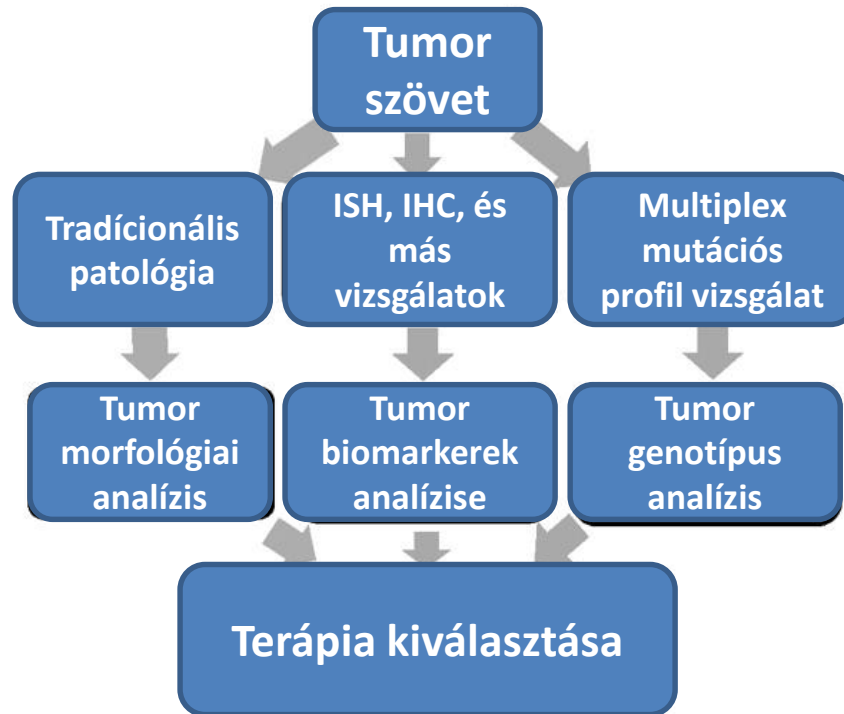
Staging

A patológiai diagnosztika szerepe az onkológiában

A Tradicionális tumor analízis



B Integrált molekuláris analízis



A patológiai laboratóriumi vizsgálat általános munkamenete

1. Anyag beérkezése, fixálás

2. Indítás

3. Beágyazás

4. Metszés, HE festés

5. Orvosi áttekintés

6. Immunhisztokémia

7. Szövetteni lelet készítés

8. Molekuláris patológia

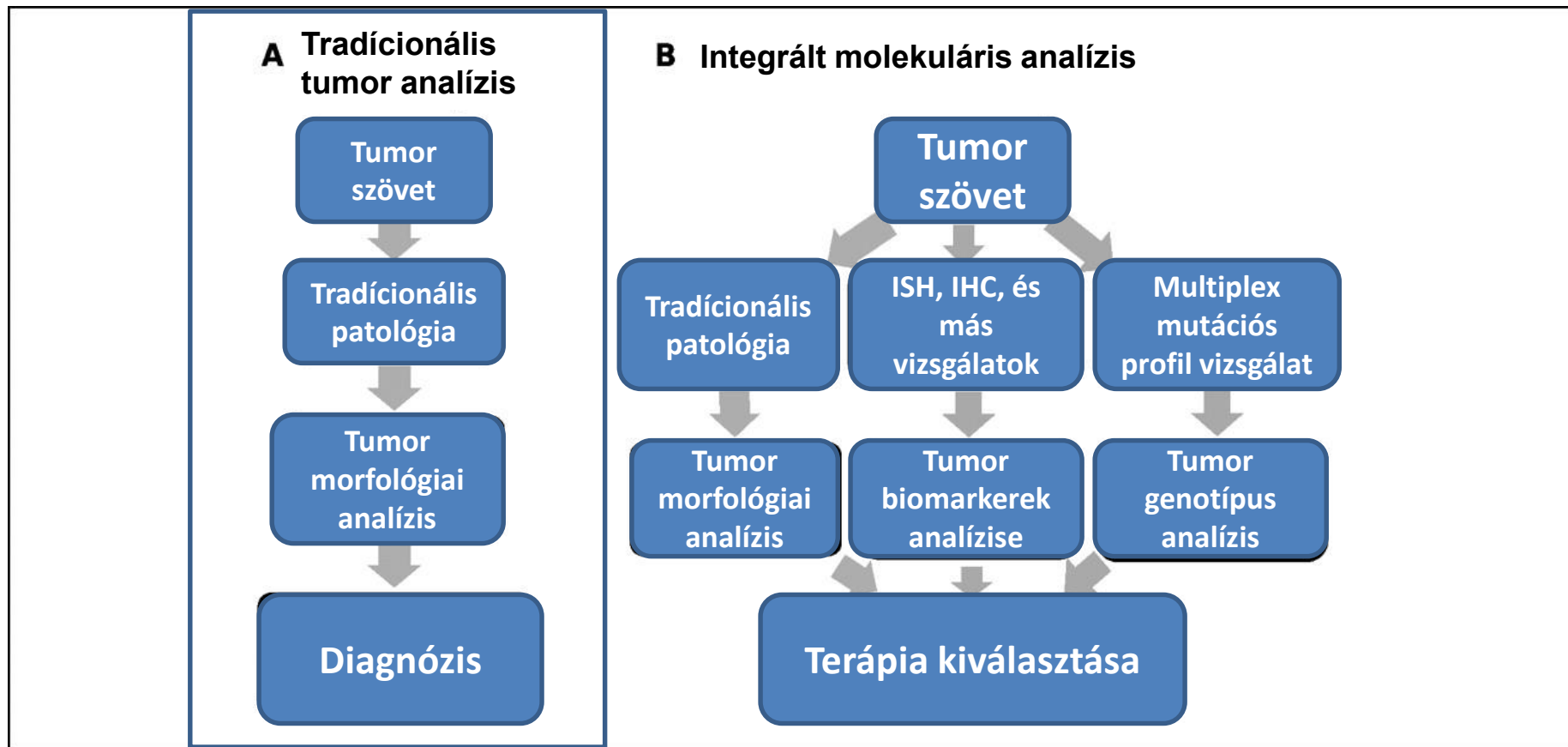
8/1. Minta kiválasztása

8/2. DNS izolálás

8/3. PCR reakciók, szekvenálás, FISH

8/4. Molekuláris patológiai lelet készítés

A patológiai diagnosztika szerepe az onkológiában

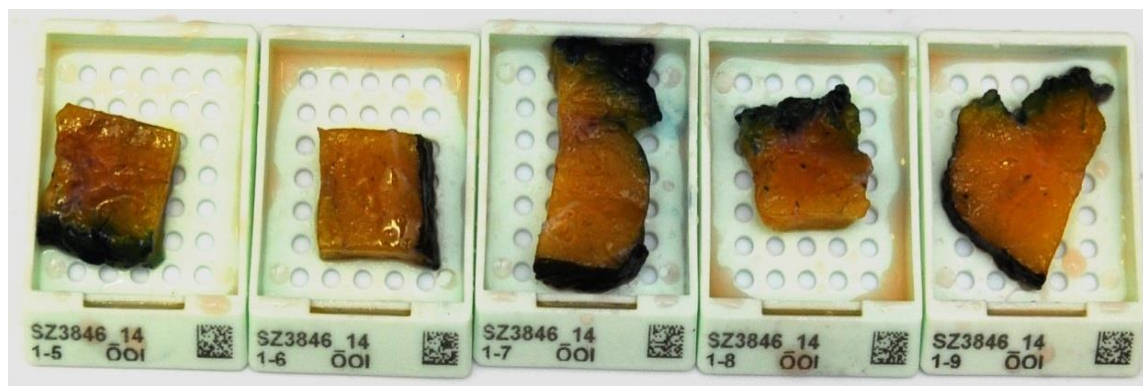
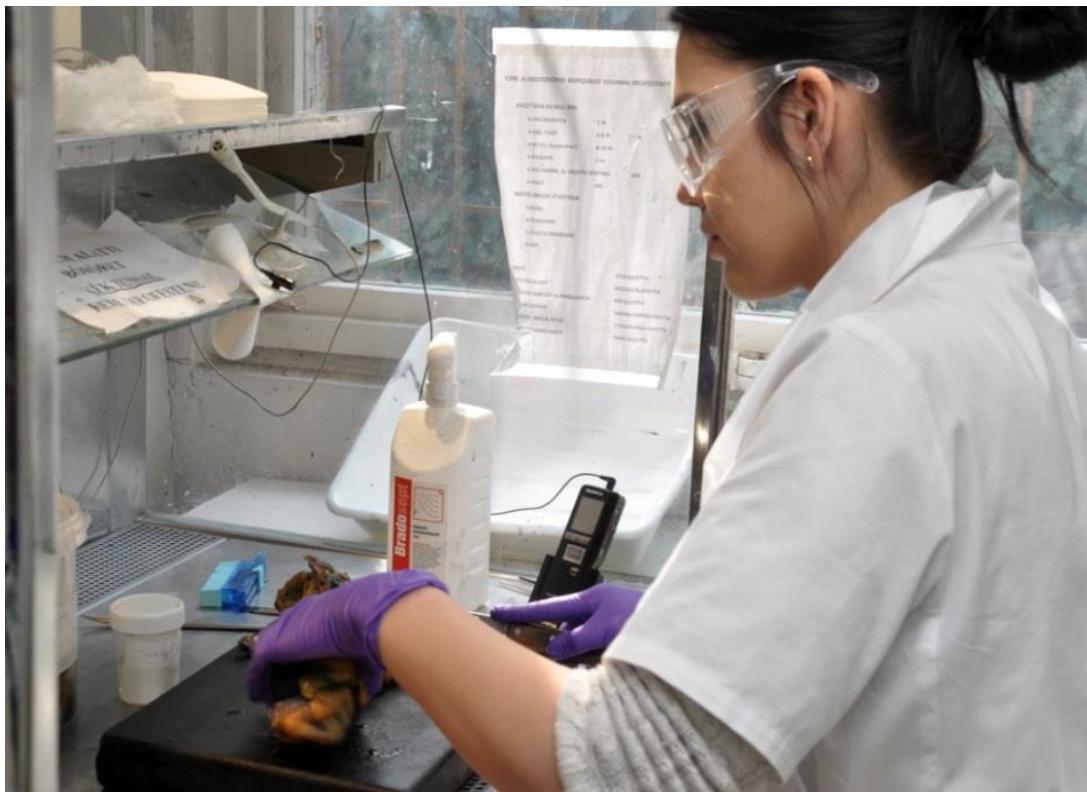


Indítás – Makroszkópos vizsgálat

A sebészi szélek megítélése



Indítás – Makroszkópos vizsgálat

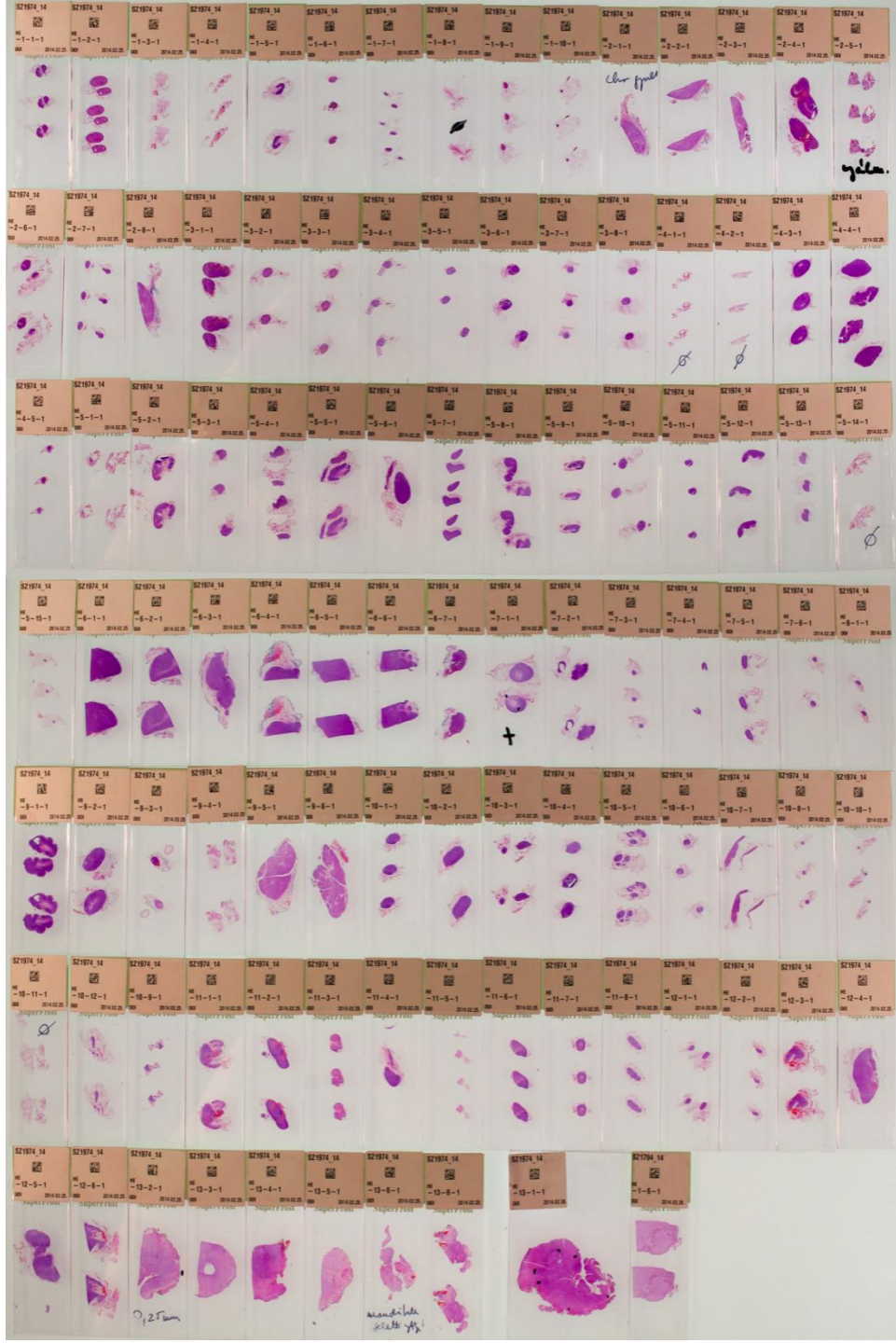


Metszés





HE Festés



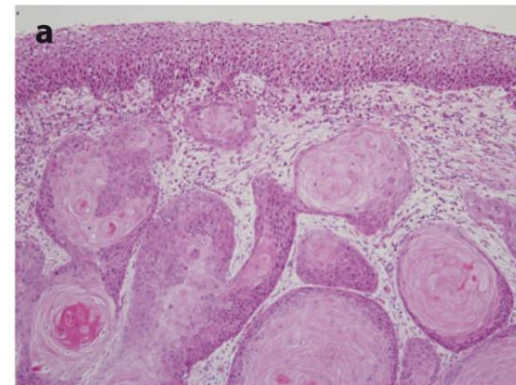
„Hagyományos” szövettani paraméterek

- **Diagnózis:** Milyen kiindulású a tumor, milyen sejt eredetű?
 - Dignitás
 - Alap malignus tumor kategóriák
 - Carcinoma
 - Sarcoma
 - Lymphoma
 - Melanoma
 - Csírasejtes
- **Tumor méret**
- Hisztológiai grade
 - Differenciáció – specializált funkció
 - Mennyire hasonlít a kiindulási szövetre/sejtre
 - Jól bevált grading
 - Emlő: Nottingham Prognosztikai Index
 - Prostata: Gleason’s score
- Vascularis invázió
- Perineurális invázió
- Szélek státusza
- **Nyirokcsomó státusz**
- **pTNM: legfontosabb prognosztikai paraméterek összegzése**

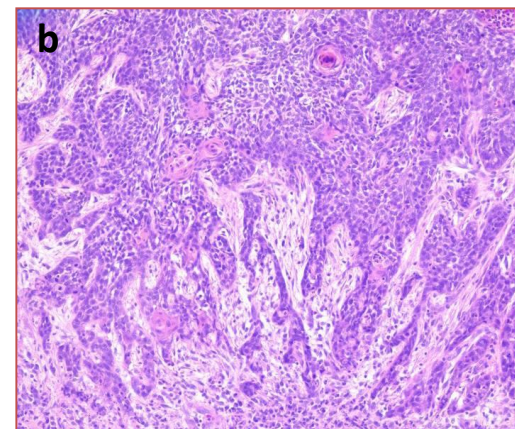
Laphámcarcinoma morfológiai típusai

Fej-nyak tumorok

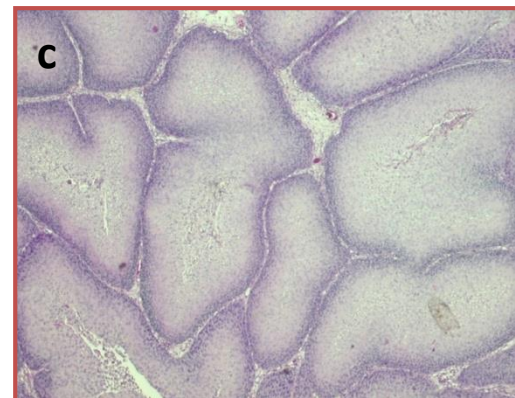
Konvencionális (a)



Basaloid (b)

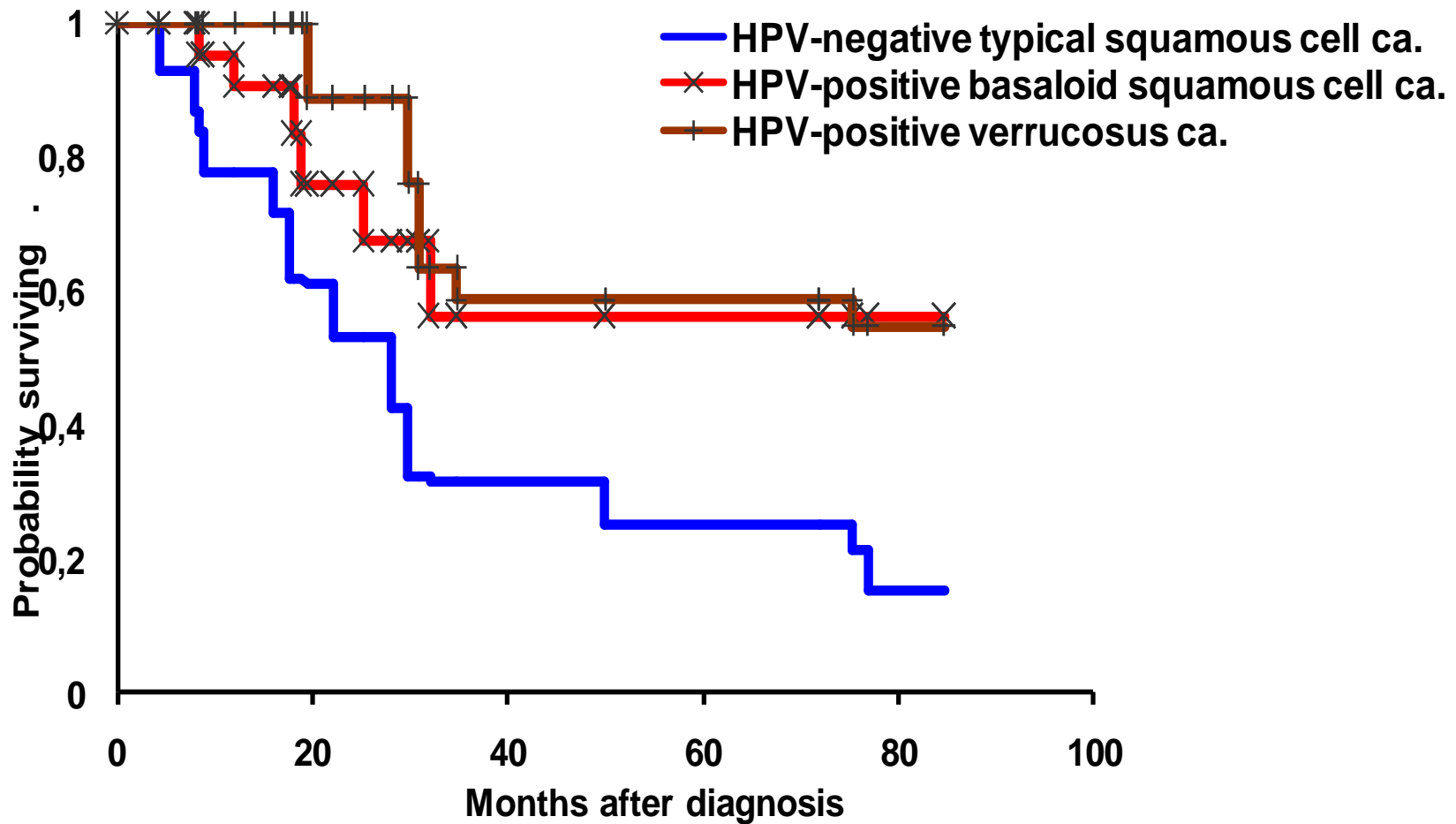


Verrucosus (c)



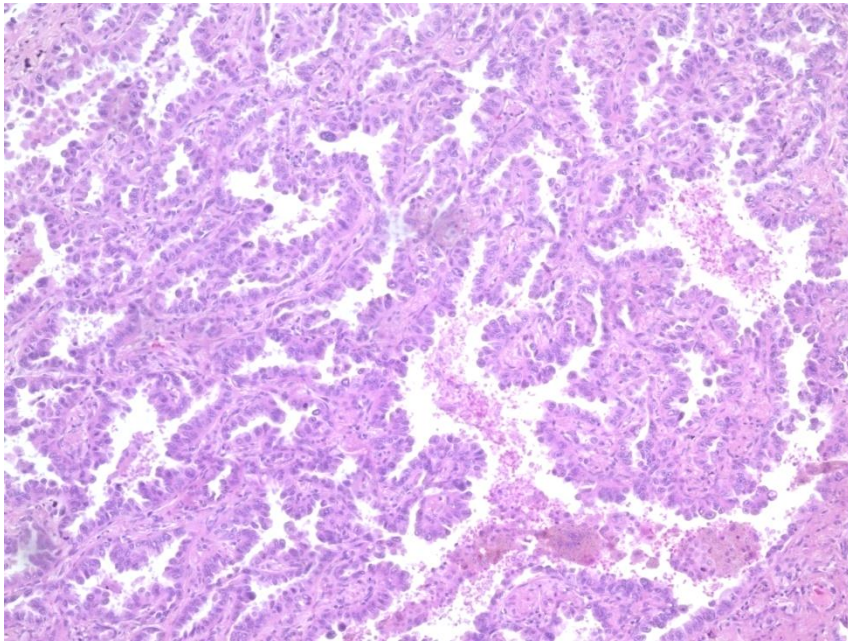
Survival and Histology/HPV status

n=136

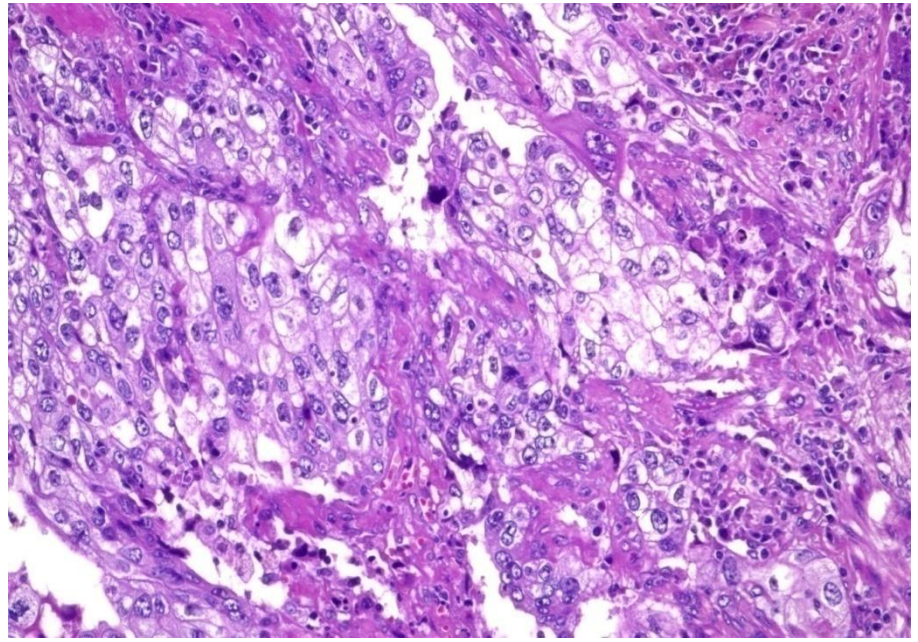


Differenciáltság – Hisztológiai grade

Tüdő adenocarcinoma

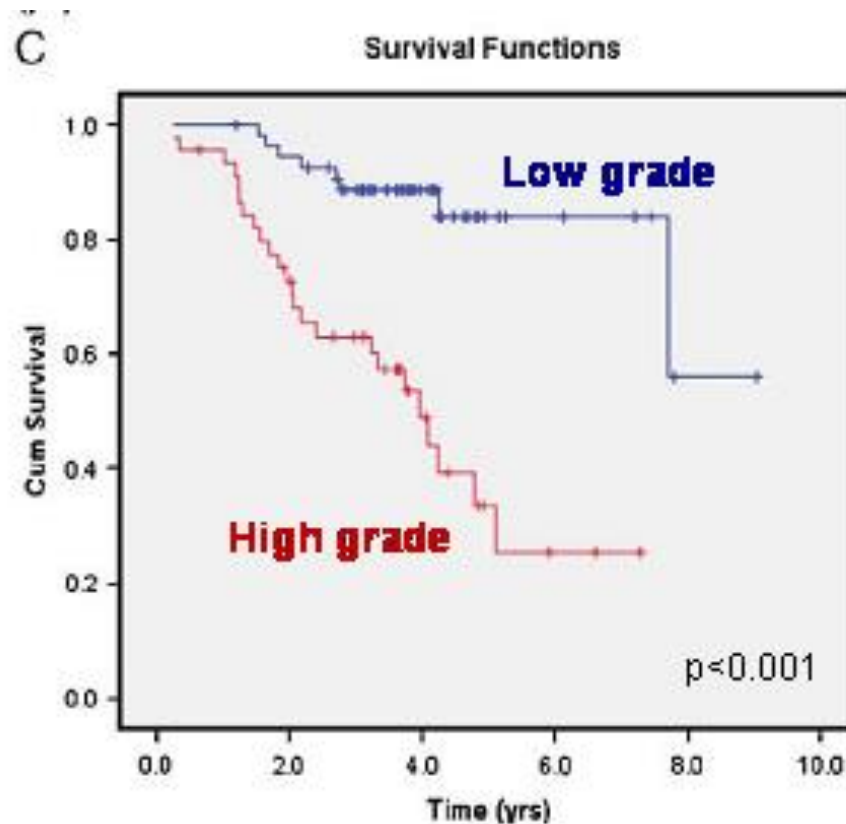


Low grade



High grade

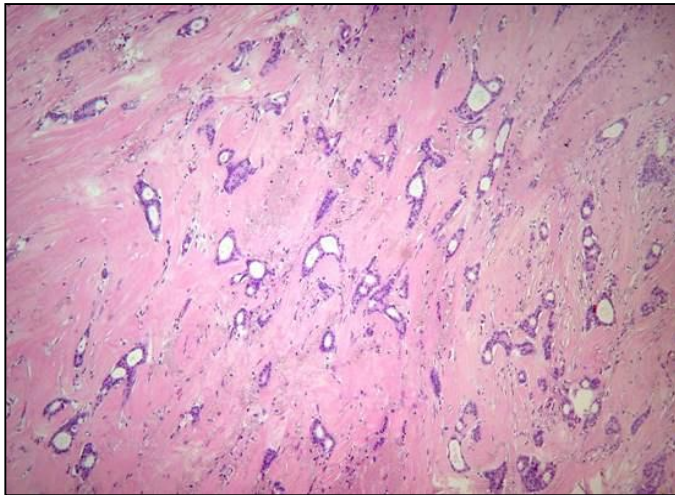
100 reszekált primer tüdő ACA túlélési korrelációja a hisztológiai grade függvényében



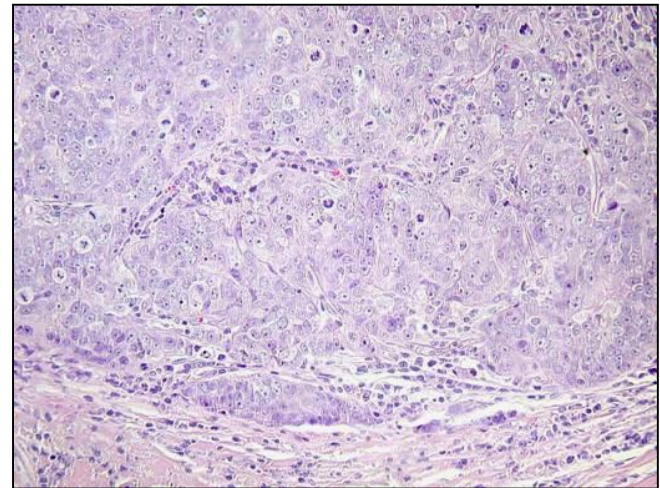
Hisztológiai grade emlőrákban

Tumor grade 1-3:

Tubulus képzés + Nuclearis grade + Mitózis szám

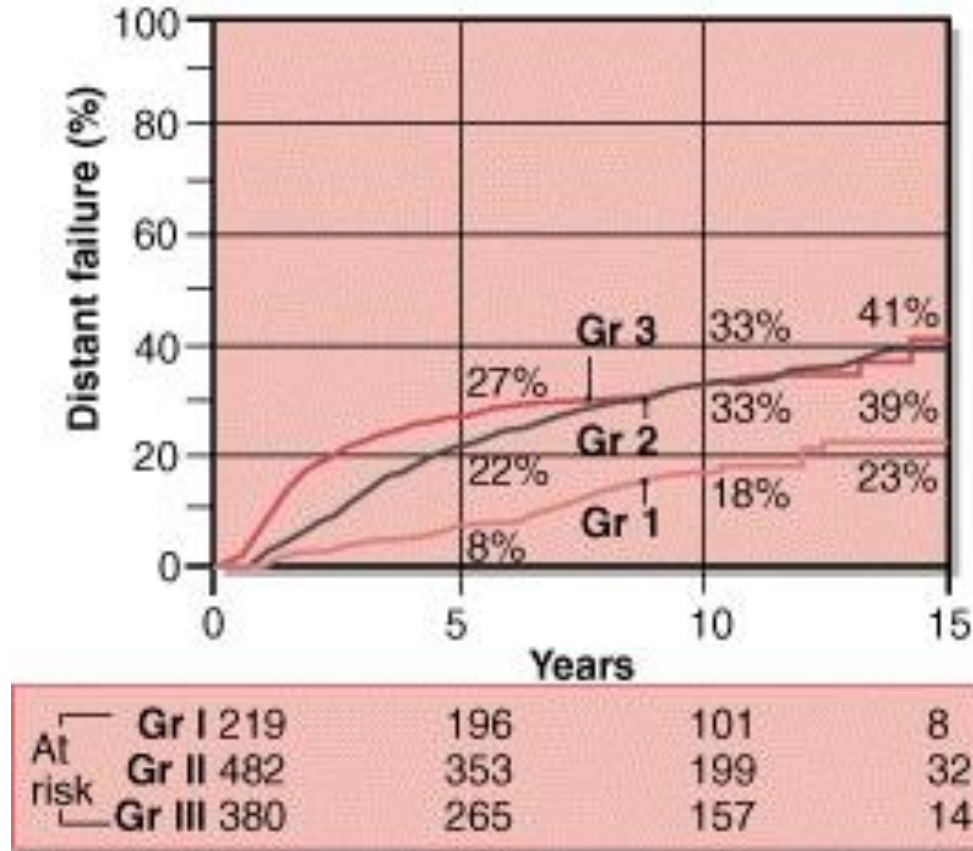


Jól differenciált (Grade I)



Rosszul differenciált (Grade III)

Hisztológiai grade és távoli áttétek emlőrákban n=1081



From: [Role of the Surgical Pathologist in the Diagnosis and Management of the Cancer Patient](#)



Holland-Frei Cancer Medicine. 6th edition.
Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al., editors.
Hamilton (ON): [BC Decker](#); 2003.

Copyright © 2003, BC Decker Inc.

NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine. National Institutes of Health

Nottingham Prognosztikai index

Méret+Grade +NYCS statusz

Nottingham Prognosztikai Index: $(0,2 \times 0,9) + 1 + 1 = 2,18$

Kiváló prognózisú csoport

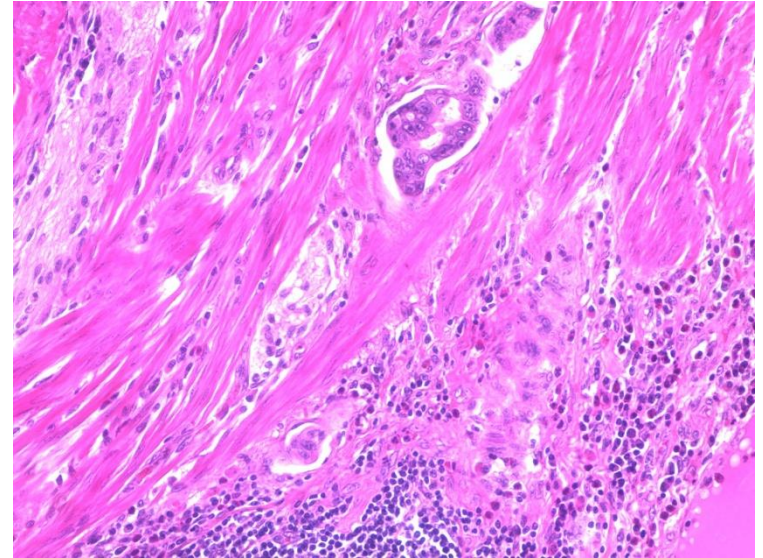
Az NPI prognosztikai értéke

Csoport	NPI	10 éves túlélés
Kiváló	2.02-2.4	96%
Jó	2.41-3.4	93%
Közepes 1	3.41-4.4	81%
Közepes 2	4.41-5.4	74%
Rossz	5.41-6.4	55%
Nagyon rossz	6.41-6.8	38%

Vasculáris invázió vastagbélrákban

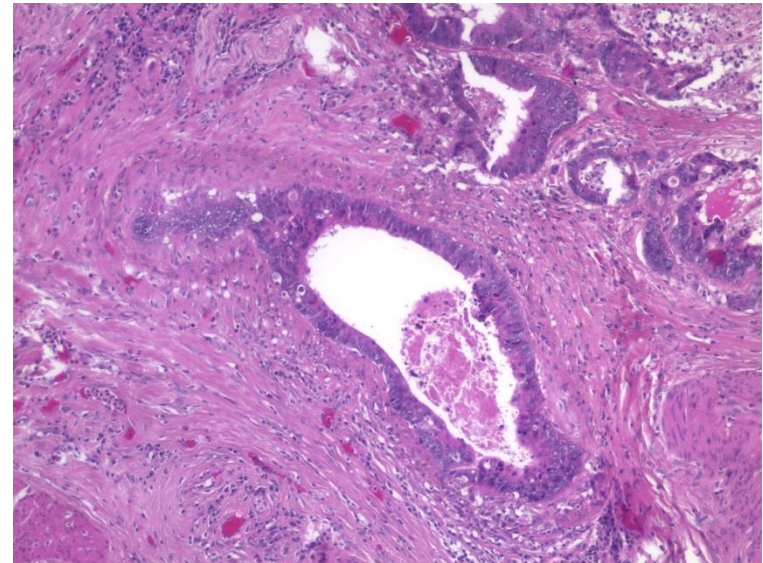
- **Nyirokér invázió**

- Lokális nyirokcsomó áttét jelenlétével függ össze, detektálásának jelentősége polypectomiás mintákban nagyobb
- CD31, D2-40



- **Vénás invázió**

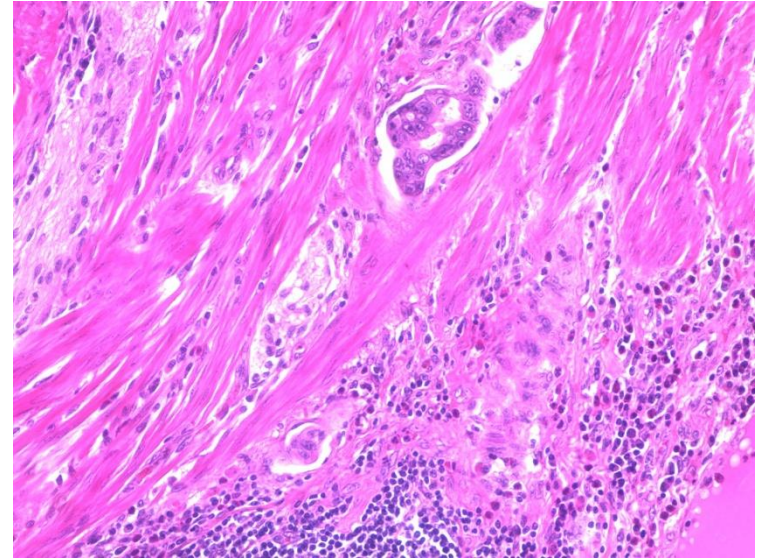
- 11%-89,5% közötti az előfordulása
- Jelenléte összefügg a tumor recidívával (főként hematogén áttét formájában) és csökkent túléléssel
- **HE festésen** nem mindig vehető észre
 - Elasticus rostfestés (orcein, van Gieson)
 - CD34



Vasculáris invázió vastagbélrákban

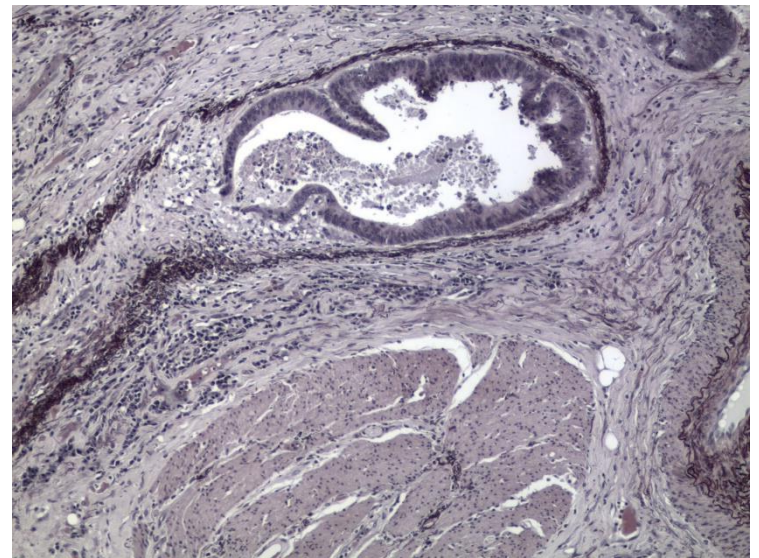
- **Nyirokér invázió**

- Lokális nyirokcsomó áttét jelenlétével függ össze, detektálásának jelentősége polypectomiás mintákban nagyobb
- CD31, D2-40



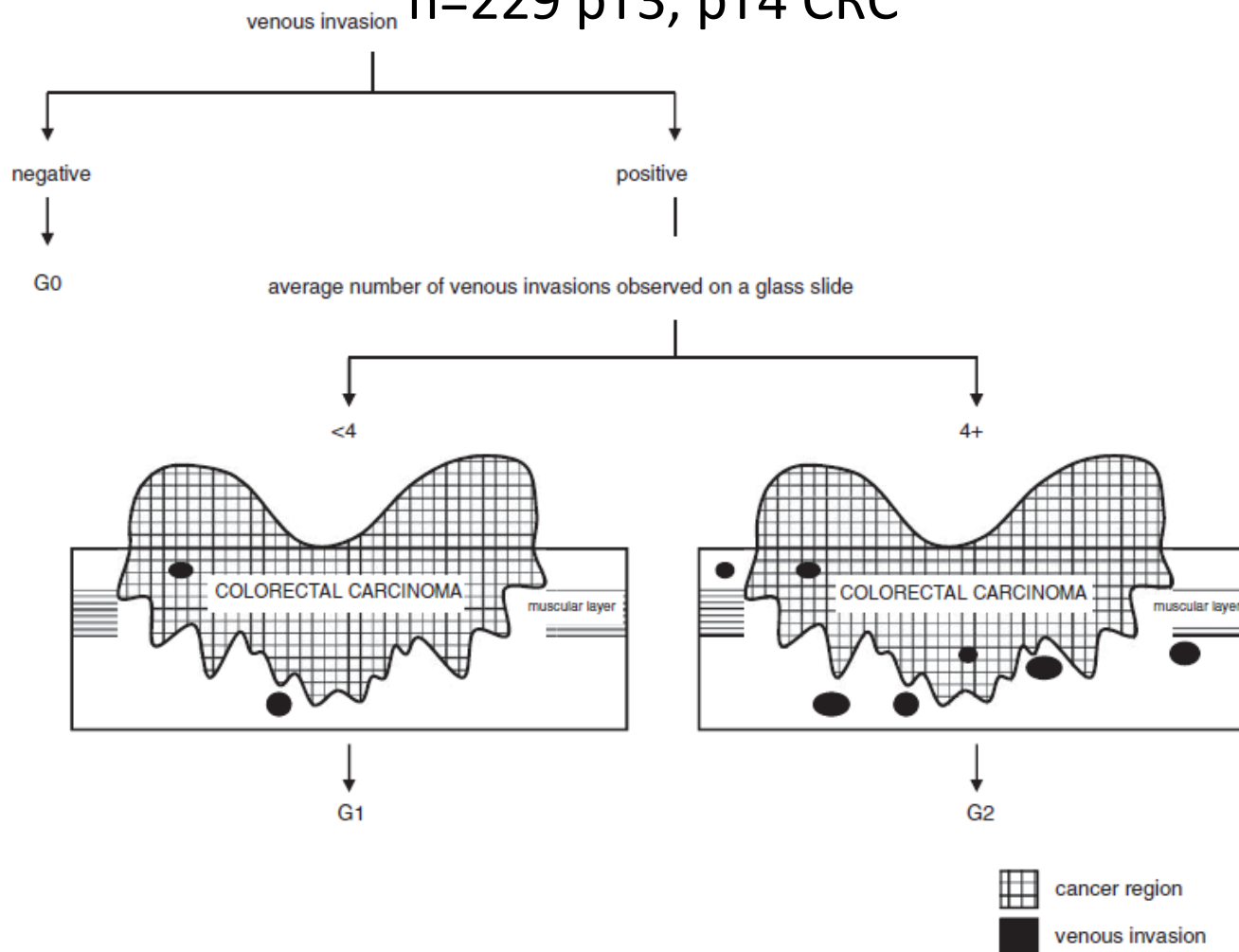
- **Vénás invázió**

- 11%-89,5% közötti az előfordulása
- Jelenléte összefügg a tumor recidívával (főként hematogén áttét formájában) és csökkent túléléssel
- HE festésen nem mindig vehető észre
 - Elasticus rostfestés (**orcein**, van Gieson)
 - CD34



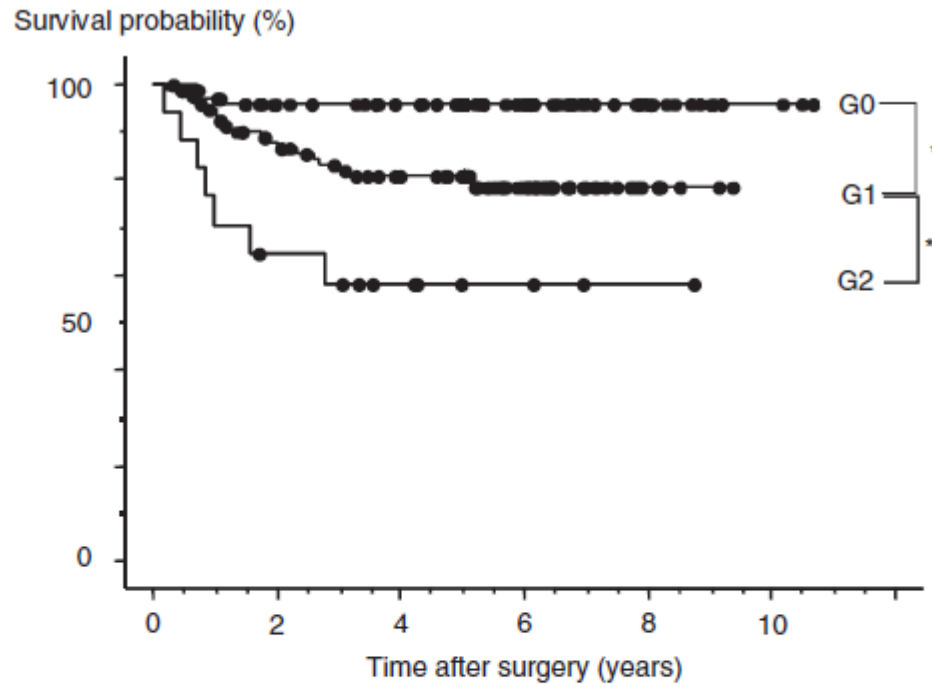
A vénás invázió mértéke mint prognosztikus tényező vastagbélrákban

n=229 pT3, pT4 CRC



A vénás invázió mértéke mint prognosztikus tényező vastagbélrákban

n=191 pT3 CRC



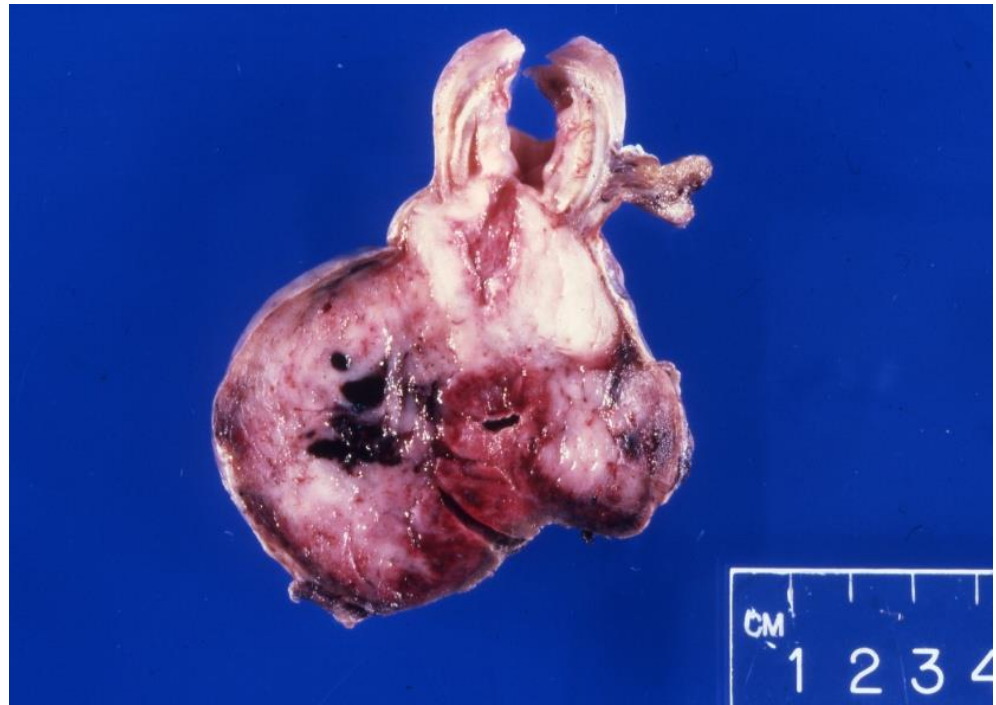
Number of venous invasion		Number at risk			
0 (G0)	75	61	54	31	13
1-3 (G1)	99	74	58	30	6
4- (G2)	17	10	6	3	1

*p=0.004 **p=0.022

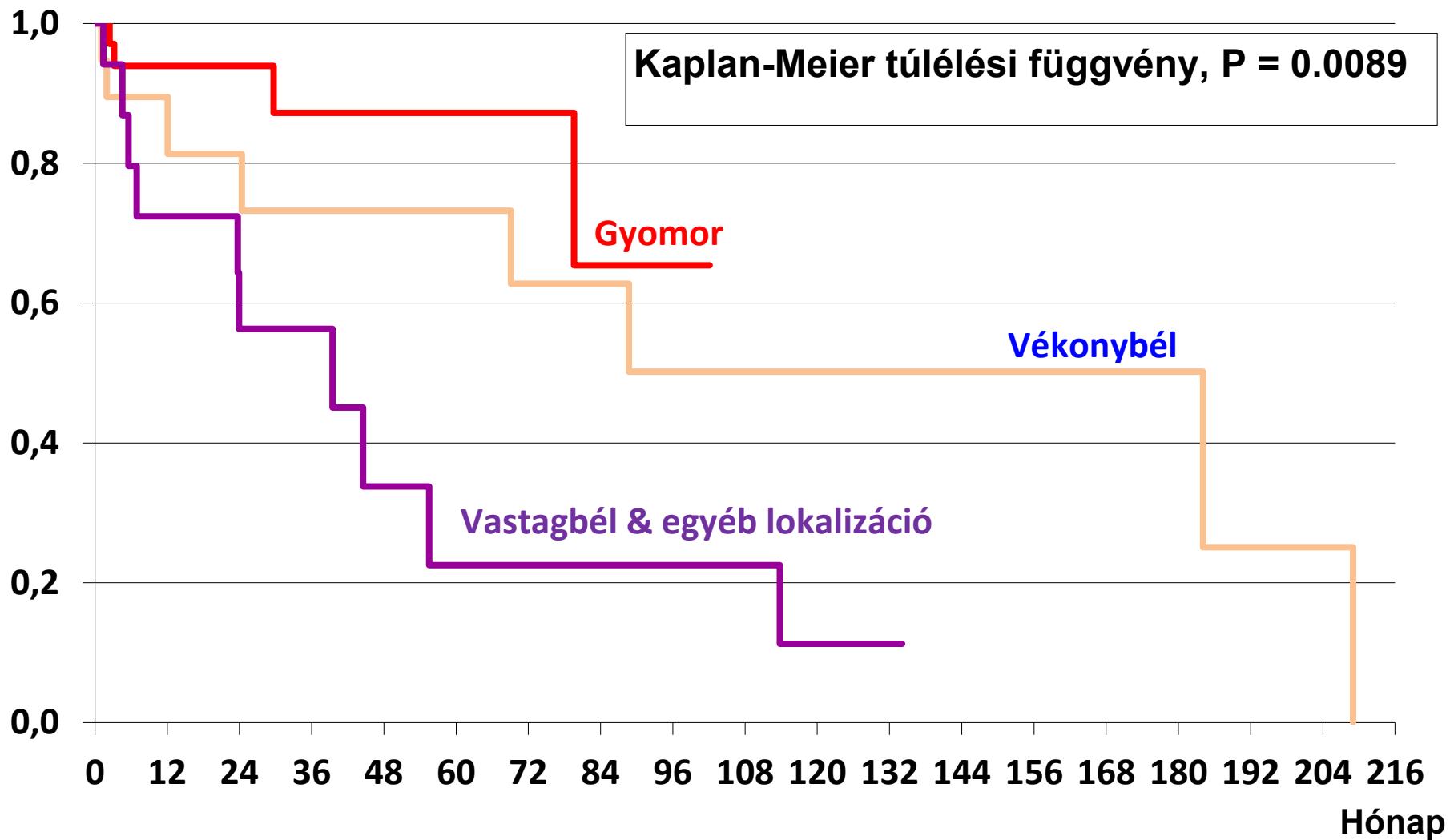
FIGURE 4. Kaplan-Meier estimates of survival (the pT3 group).

Gastro-intestinalis stromális tumor (GIST)

- Kliniko-patológiai prognosztikai faktorok
 - Lokalizáció
 - Méret
 - Mitózis szám



GIST, lokalizáció szerinti túlélés. No = 76





SURGICAL PATHOLOGY
CRITERIA

Diagnostic Criteria

Multiple/Hereditary/Pediatric

Supplemental Studies

Molecular Genetic Studies

➤ Grading/Staging/Report

Differential Diagnosis

Clinical

Bibliography

Printable Version

GENERAL LINKS

Surgical Pathology Criteria
Home

Diseases and Disorders By
Section

Keyword Search

Abbreviations

Stanford Pathology
Department

To Submit a Specimen for Review:

For Physicians

For Patients

Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST)

Grading / Staging / Report

Grading

Risk for Metastasis/Progressive Disease

	Stomach	Duodenum	Jejunum & Ileum	Rectum
≤5 mits/50 hpf				
≤2cm	0 none	0 none	0 none	0 none
>2cm ≤5cm	very low	low	low	low
>5cm ≤10cm	low	high	moderate	high
>10cm	moderate	high	high	high
>5 mits/50 hpf				
≤2cm	few cases	no cases	few cases	high
>2cm ≤5cm	moderate	high	high	high
>5cm ≤10cm	high	high	high	high
>10cm	high	high	high	high

Large intestine tumors are rare, risk appears similar to jejunum&ileum

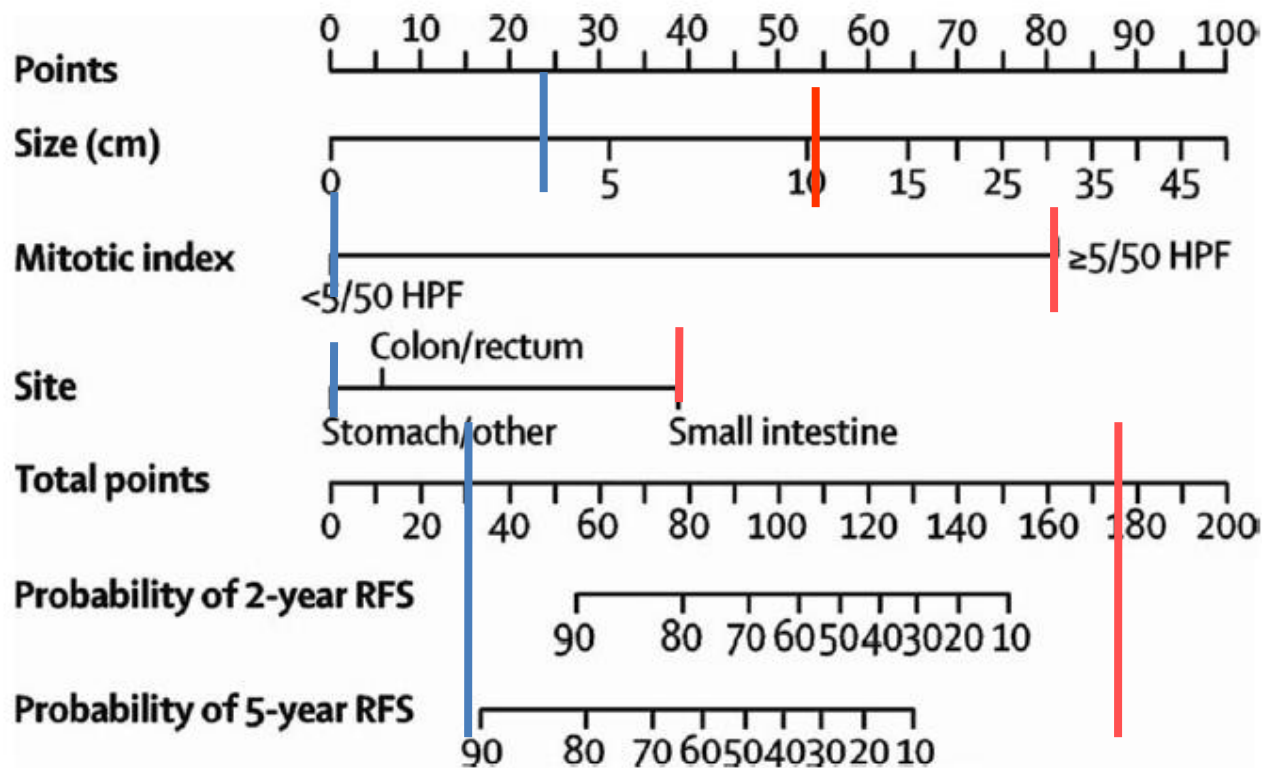
Esophageal tumors are too rare to develop criteria

With wide field microscope view (5mmsq), count 25 fields with same cutoff of 5 as above

Based on Miettinen and Lasota 2006

Progressive Disease or Death Risk Groups

Group	Approximate Progression Incidence
0 None	0
Very low	<2%
Low	<5%
Moderate	10-30%
High	>50%



4 cm-es GIST
a gyomorban,
MI<5/50 NNL



5 éves recidívamentes túlélés: 90%

Figure 4.

Nomogram predicting 2 and 5-year recurrence-free survival in patients with resected primary GIST. Points are assigned based on tumor size, mitotic index, and site by drawing an upward vertical line to the “Points” bar. Based on the sum of the points generated, a downward vertical line is drawn from the “Total Points” line to calculate 2 and 5-year RFS. From Gold JS, Gonen M, Gutierrez A, et al. Development and validation of a prognostic nomogram for recurrence-free survival after complete surgical resection of localized primary gastrointestinal stromal tumor: a retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2009; 10:1045–1052; with permission.

10 cm-es GIST a
vékonybélben,
MI>5/50 NNL



5 éves recidívamentes túlélés: <10%

„Hagyományos” szövettani paraméterek

- **Diagnózis:** Milyen kiindulású a tumor, milyen sejt eredetű?
 - Dignitás
 - Alap malignus tumor kategóriák
 - Carcinoma
 - Sarcoma
 - Lymphoma
 - Melanoma
 - Csírasejtes
- **Tumor méret**
- Hisztológiai grade
 - Differenciáció – specializált funkció
 - Mennyire hasonlít a kiindulási szövetre/sejtre
 - Jól bevált grading
 - Emlő: Nottingham Prognosztikai Index
 - Prostata: Gleason’s score
- Vascularis invázió
- Perineurális invázió
- Szélek státusza
- **Nyirokcsomó státusz**
- **pTNM: legfontosabb prognosztikai paraméterek összegzése**

TNM

- Összetevők: T, N, M.
 - Tumor méret
 - Nyirokcsomó státusz
 - Távoli áttétek
- Kategóriák: T1a, ...; N0, ...; M1a, ...
- Deskriptorok/jellemzők: Olyan paraméterek, amelyek meghatározzák a kategóriákat



Patient Name:		Client:	Baystate Medical Center	Accession #:	
Med. Rec. #:		Location:	PAHLD	Date Taken:	5/24/2000
DOB:	(Age: 78)	Billing #:		Received:	5/24/2000
Gender:	M			Signed Out:	5/29/2000
Physician(s):					

Final Diagnosis

- (PARTS 1 THROUGH 8):
- LUNG, LEFT UPPER LOBE; LOBECTOMY:
 - SQUAMOUS CELL CARCINOMA.
 - A. TUMOR SIZE: 6.5 CM X 3.2 CM X 4.8 CM.
 - B. HISTOLOGIC GRADE: 1.
 - C. EXTENT OF EPITHELIAL TUMOR:
 - TUMOR INVADES VISCERAL PLEURA.
 - TUMOR IS 1 CM FROM BRONCHIAL MARGIN OF EXCISION.
 - MARGINS OF EXCISION:
 - A. BRONCHIAL MARGIN OF RESECTION: NEGATIVE FOR TUMOR.
 - B. VASCULAR MARGIN OF EXCISION: NEGATIVE FOR TUMOR.
 - LYMPH NODES (HILAR):
 - A. NUMBER EXAMINED: 11.
 - B. NUMBER POSITIVE: 3.
 - C. COMMENT: Two of the nodes are positive as a result of direct extension of tumor into matted nodes.
 - (PARTS 1-3,5-8): LYMPH NODES (MEDIASTINAL L6, L5, L4, L9, L8, L10, L11):
 - A. NUMBER EXAMINED: 7.
 - B. NUMBER POSITIVE: 0.
 - ADDITIONAL TUMOR FEATURES:
 - A. LYMPHATIC VESSEL INVASION IN LUNG: NOT IDENTIFIED.
 - B. BLOOD VESSEL INVASION IN LUNG: IDENTIFIED IN A LARGE PULMONARY ARTERY BRANCH (BLOCK 4-7).
 - C. COMMENTS:
 - LYMPHOPLASMACYTIC RESPONSE IS PRESENT, MILD.
 - STROMAL RESPONSE IS PRESENT, MODERATE.
 - TUMOR NECROSIS IS PRESENT, EXTENSIVE.
 - TUMOR INVADES A SEGMENTAL BRONCHUS.
 - NON NEOPLASTIC LUNG TISSUE:
 - A. ASSOCIATED OBSTRUCTIVE PNEUMONIA: EXTENDING TO HILAR REGION, ACUTE AND ORGANIZING.
 - B. OTHER FINDINGS:
 - EMPHYSEMA.
 - PLEURA FIBROSIS WITH FUSION OF VISCERAL AND PARIETAL PLEURAE.
 - SUBPLEURAL FIBROSIS.
 - ADDITIONAL TISSUE STUDIES: ELASTIC TISSUE STAIN DEMONSTRATES TUMOR PENETRATION OF VISCERAL PLEURA.
 - pTN STAGE:
 - A. PRIMARY TUMOR: pT2.
 - B. REGIONAL LYMPH NODES: pN1.

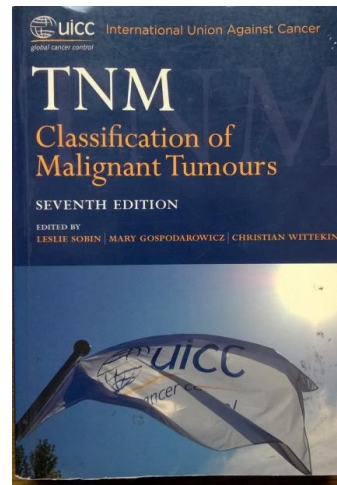
Laphám carcinoma
6,5 cm

pT2N1

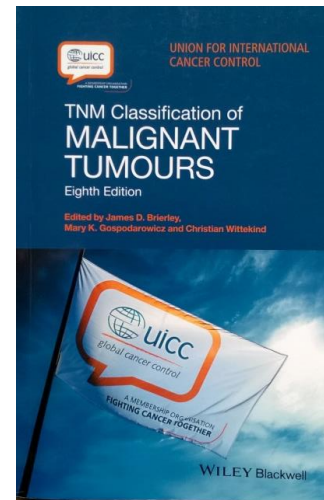
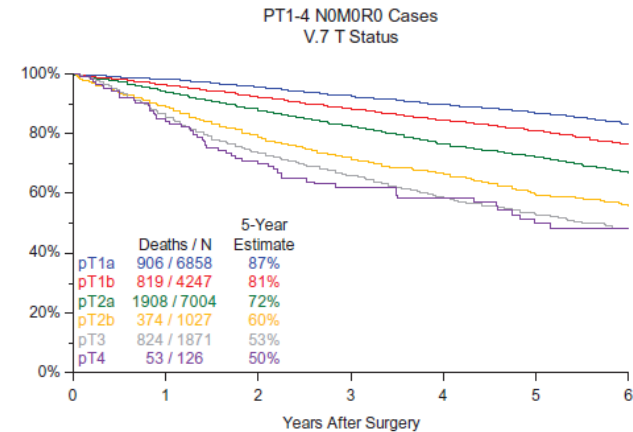
Electronically Signed Out

TNM v5,v6, v7 és v8 6,5 cm-es tüdő carcinoma

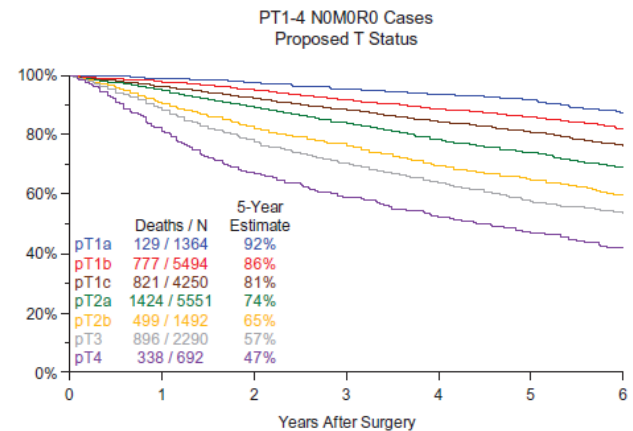
- UICC 5-ik kiadás 1997 _ pT2
- UICC 6-ik kiadás 2002 _ pT2
- UICC 7-ik kiadás 2009 _ pT2b



A 7th Edition T Categories



Proposed T Categories

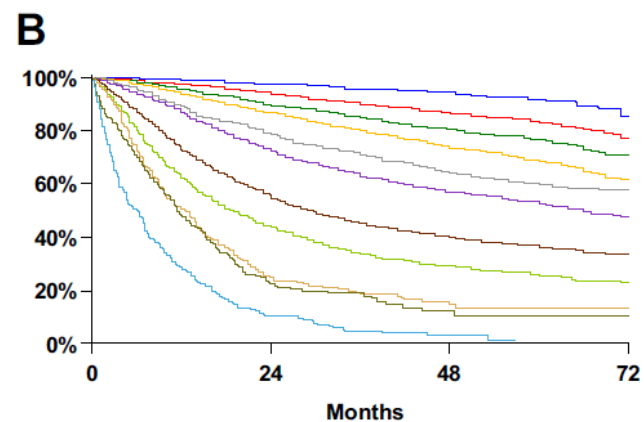


- UICC 8-ik kiadás 2017 _ pT3

Stádium csoportosítás

TNM v8

	N0	N1	N2	N3	M1a bármely N	M1b bármely N	M1c bármely N
T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB



A leggyakoribb terápiás eljárások a NEM KISSEJTES tüdőrák különböző stádiumaiban

Stage	T	N	M	Surgery	Irrad.	Chemo.
I/A1,2,3	T1a,b,c	N0	M0	+	- (vagy: + !)	-
I/B	T2a	N0	M0	+	- (vagy: + !)	-
II/A	T2b	N0	M0	+	- (vagy: + !)	+
II/B	T1a-2b	N1	M0	+	-	+
	T3	N0	M0	+	+ / -	+
III/A	T1a-2b	N2	M0	+	+	+
	T3	N1	M0	+ / -	+ / -	+
	T4	N0 – N1	M0	+ / -	+ / -	+
III/B	T1a-2b	N3	M0	-	+	+
	T3-4	N2	M0	+ / -	+	+
III/C	T3-4	N3	M0	-	+	+
IV/A	T1- 4	N1- 3	M1a,b	-	+ / -	+
IV/B	T1-4	N1-3	M1c	-	-	+

A patológiai lelet típusai

- Narratív, leíró
- Standardizált (szinoptikus, sablonizált)
- Strukturált, elektronikus, számítógép által olvasható XML (extensible markup language) formátum

CRC metszetek és narratív, leíró lelet

1993



Elkezesi IGO: 11.25.
Anyag (localisatio): colon

WHO kód: 29000, 29070
Fagyaszttásos szövettani vizsgálat, dg.:

13 cm hosszágú colon részlet. Középen 5 cm legnagyobb Ø-jü felhányt
szélü kifekélyesedés van. Az egyik resctios vonaltól 3, a másiktól
3,5 cm-re kezdődik az elváltozás. A metszlapon a bélfal kissé meg-
vastagodott, úgytűnik tumorosan infiltrált. A környező zsírszövetben
4 db borsnyi és kisebb nyirokcsomó van.. A vastagbéllel összefüggő
15x20 cm nagyságú csplesz részletben gócos elváltozás nincs.

Szövettani leírás: 1993.11.29./CSL

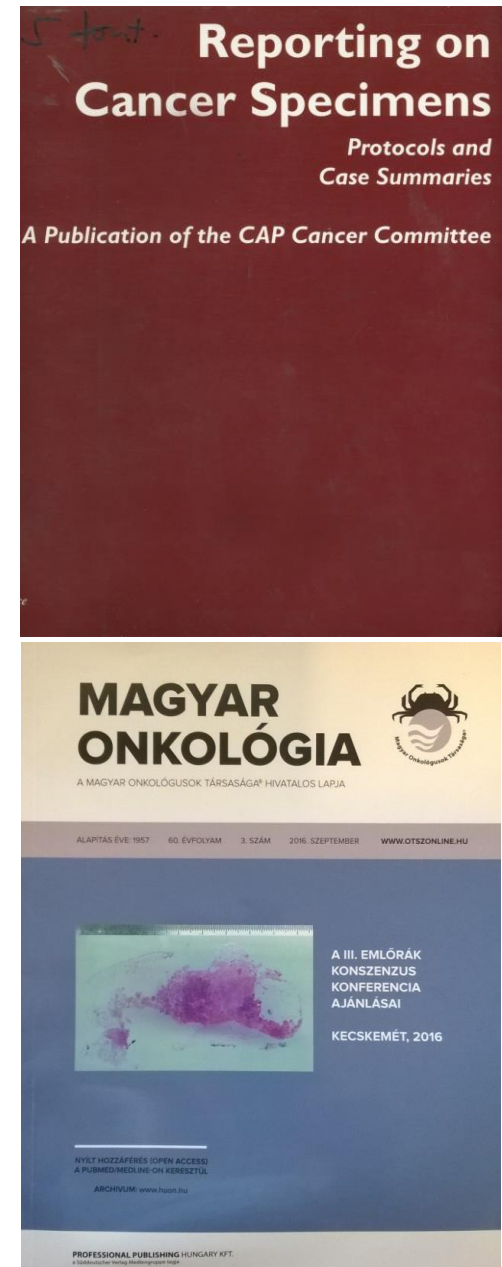
A preparátumban a vastagbél szöveti szerkezete csak a széli része-
ken ismerhető fel. A preparátum közepén a lumenbe domborodó és
a bélfalat teljesen infiltráló daganat látható. A tumor változta-
tos alakú és nagyságú mirigy-szerű lumeneket, helyenként cribriform
mintázatot alkot. A daganatsejtek az atypia, polymorphia minden
jelét mutató, de viszonylag jól differenciált magas, illetve köbös,
hengerhám jellegű sejtek duzzadt magvakkal, melyek prominens nuc-
leolust tartalmaznak, és köztük számos osztódó alak előfordul.
Nyák secretio csak elvétve látható. A stromában közepes fokú
lymphocytás, plasmasejtes infiltratio van. A vizsgált nyirokcsomók-
ban daganatszövet nincs.

Dg.: Adenocarcinoma tubulare coli Duker B, Grade I.

Daganatos műtéti minták leletezése

Sablonizált lelet

- A sebészeti patológiai lelet *tartalmi elemeit* többféle szervezet, intézmény, szerző is meghatározza, és ezekre vonatkozó ajánlásokat fogalmaznak meg (helyi sajátosságok), pl.:
 - College of American Pathologists (www.cap.org)
 - Association of the Directors of Anatomic Pathology (www.adasp.org)
 - Royal College of Pathologists (www.rcpath.org)
 - Ackerman's Surgical Pathology Book - MSKCC (Elsevier, 10th Ed. 2011)
 - Stanford School of Medicine (www.surgpathcriteria.stanford.edu)
 - Országos Onkológiai Intézet
 - Emlőrák Konszenzus Konferencia III., Kecskemét 2016 (Magyar Onkológia)
- A leletnek azokat az adatokat kell jól áttekinthető módon tartalmaznia, amelyek
 - Szükségesek a *stádiumba soroláshoz*
 - Kellenek *terápiás döntések* meghozatalához
 - *Prognosztikus és/vagy prediktív* jelentőségük van



CRC Leletsablon

OOI

Reszekció típusa:

Tumor típus:

- Adenocarcinoma NOS mucinosus komponens nélkül.
- Adenocarcinoma ...% mucinosus komponenssel/ több, mint 50%-os mucinosus komponens, mucinosus carcinoma.
- Pecsétyűrűsejtes carcinoma.
- Egyéb

Szöveti grade:

- Jól differenciált
- (Közepesen differenciált)
- Rosszul differenciált

Tumor lokalizációja:

- Cecum
- Colon ascendens
- Flexura hepatica
- Colon transversum
- Flexura lienalis
- Colon descendens
- Colon sigmoideum
- Rectosigmoid colon
- Rectum

Preexistáló polyp: jelen van / nincs.

Tumor mérete:

- Legnagyobb átmérő:
- Tumor maximalis vastagsága:

Lokális invázió:

- Non-invazív
- A tumor infiltrálja a lamina propriát
- Muscularis propriát
- Subserosat
- Nem peritonealisált pericolicus vagy perirectalis szövetet

Serosai felszín: infiltrált / nem érintett.

Vascularis invázió: nem látható / jelen van.

Orcein festéssel vérér invázió: jelen van/ nincs.

Perineurális invázió: nem látható / jelen van.

Kifejezett tumorbimbózás: jelen van/ nincs.

Sebészi szélek:

- Az összes szél tumormentes.
- Tumoros infiltráció mély rezekciós széltől való távolsága:
- A tumoros infiltráció 1 nagy nagyítású látótérnél kisebb távolságra van a mély széltől.
- Tumoros infiltráció jelen van az alábbi szélekben:

Nem neoplastikus vastagbél nyálkahártya: lényeges histopathológiai eltérés nélkül.

Polyp távol a carcinomától: nem azonosítható / jelen van.

Nyirokcsomó status: (metastaticus nyirokcsomók száma /az összes vizsgált nyirokcsomó számához viszonyítva):

- Legnagyobb áttét: cm,
- Tokáttörés: nem figyelhető meg / jelen van.

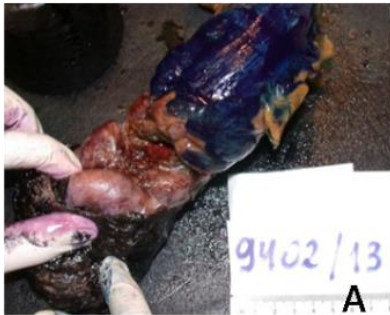
Jobb colonfél (coecumtól flexura lienalisig) tumoroknál **microsatellita státusz** (MSH2, MLH1 immunhisztokémia):

pTNM stádium:

Módosított Astler-Coller stádium:

Egyéb/megjegyzés:

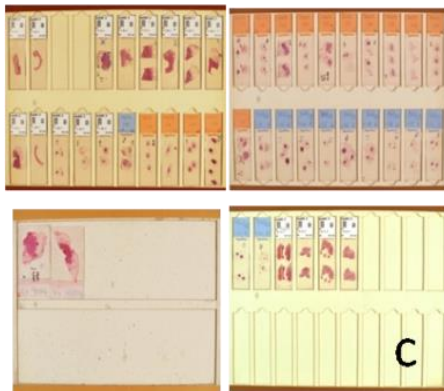
Rectum adenocarcinoma miatt történt műtétből származó reszekciós minta patológiai feldolgoása és a sablonizált lelet



A



B

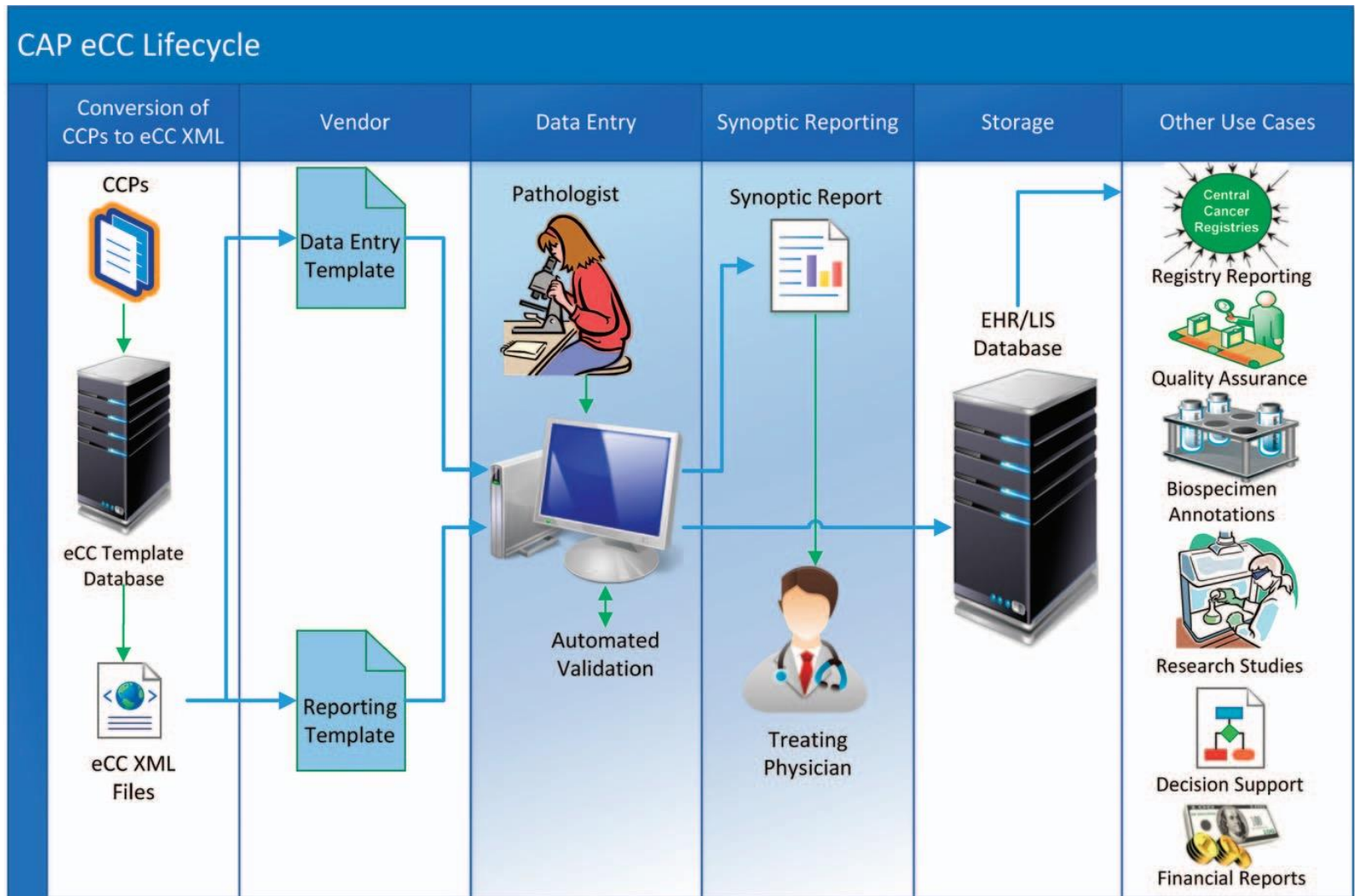


C

Rectum, reszekció:
Adenocarcinoma.
Szöveti grade: rosszul differenciált.
Tumor lokalizációja: rectum felső harmada.
Tumor makroszkópos megjelenés: ulceratív-infiltratív.
Pre-existáló polyp: nem figyelhető meg.
Tumor mérete:
- legnagyobb átmérő: 7 cm;
- tumor maximális vastagsága: 2,5 cm.
Lokális invázió: a tumor betérjed a nem peritonealisált perirectális zsírszövetbe, valamint a subserosus zsírszövetbe.
Serosai felszín: infiltrált.
Tumoros perforáció: jelen van.
Vascularis invázió (nyirok- és vérér invázió): jelen van.
Perineurális invázió: jelen van.
Kifejezett tumorbimbózás: jelen van.
Sebészi szélek: az összes szél tumormentes. A tumor a legközelebbi, circumferentialis (mély) széltől 1,2 mm-re van. A laterális (aborális és orális) szélek tekintetében a makroszkópos adatok az irányadóak.
Nem-neoplasticus vastagbél nyálkahártya: lényeges histopathológiai eltérés nélkül.
Polyp távol a carcinomától: nem azonosítható.
Nyirokcsomó státusz (a metastaticus nyirokcsomók számát az összes vizsgált nyirokcsomó számához viszonyítva): 18/29.
- Legnagyobb áttét: 1,5 cm.
- Tokáttörés: jelen van.
A perirectalis zsírszövetben ezenkívül vérérinvázióknak- ill. tumor depozitumnak megfelelő két daganatos góc is jelen van.
Serosai áttét: megfigyelhető.
pTNM stádium: pT4a N2b M1b.

D

Ecc-electronic cancer checklist



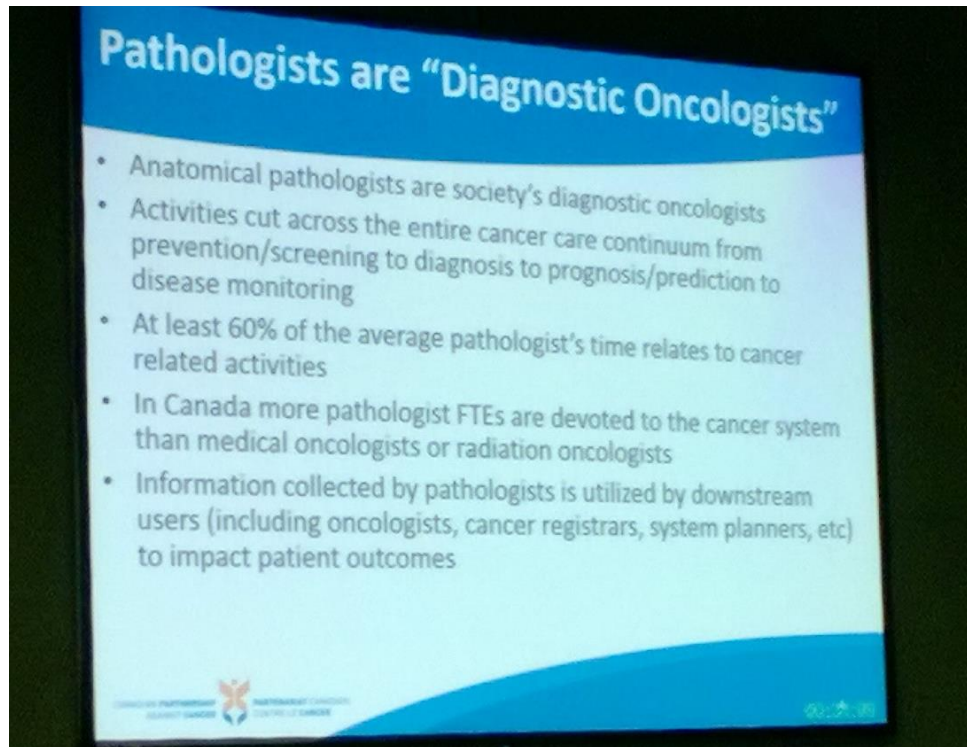
•A patológusok a társadalom diagnosztikus onkológusai

•Tevékenységük felöleli a daganatos betegek ellátásának teljes spektrumát, a megelőzéstől és szűréstől a diagnózisig, a prognózis és prediktív markerek meghatározásáig, és a betegség monitorozásáig

•A patológusok munkaidejének legalább 60%-át daganatos betegségekkel kapcsolatos tevékenységek töltik ki

•Kanadában több patológus FTE kapcsolható a daganatos betegellátáshoz mint a klinikai onkológusoké és radioterapeutáké

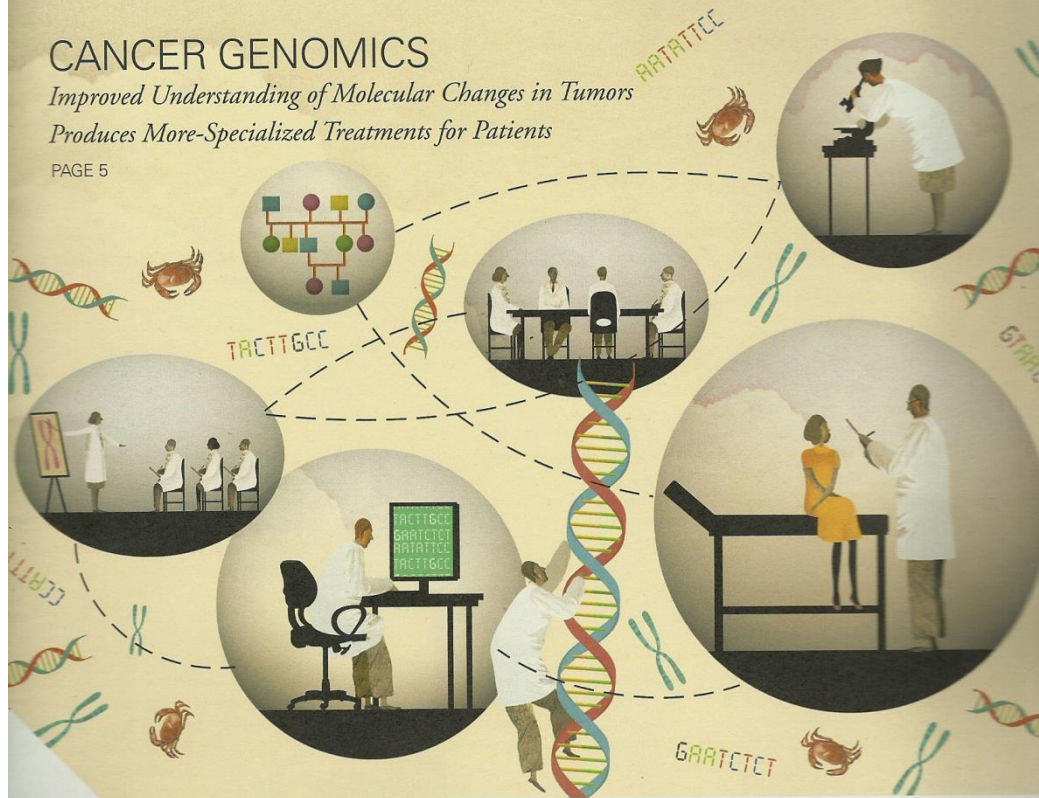
•A patológusok által összegyűjtött információt sokan használják fel (beleértve az onkológusokat, rákregiszterrel foglalkozókat és rendszer tervezőket), hogy a betegek túlélési eredményeit javítsák



CANCER GENOMICS

*Improved Understanding of Molecular Changes in Tumors
Produces More-Specialized Treatments for Patients*

PAGE 5



PLUS ALEXANDER RUDENSKY APPOINTED IMMUNOLOGY PROGRAM CHAIR 2 MSKCC CELEBRATES NATIONAL CANCER SURVIVORS DAY 2 NIKOLA PAVLETICH ELECTED TO THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES 11 PHYSICIAN-SCIENTIST SCOTT ARMSTRONG JOINS MSKCC 15 EXPERIMENTAL THERAPEUTICS CENTER MARKS TEN-YEAR ANNIVERSARY 20



2



2



11



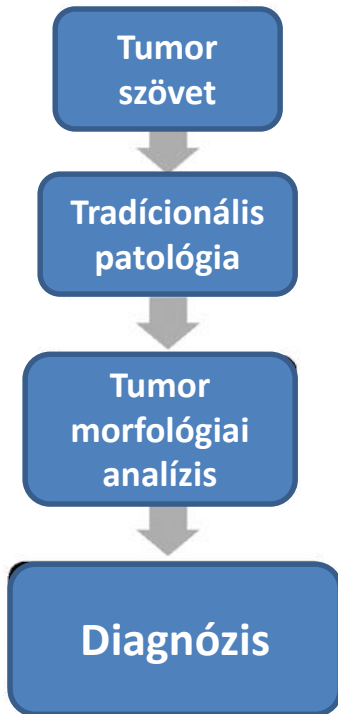
15



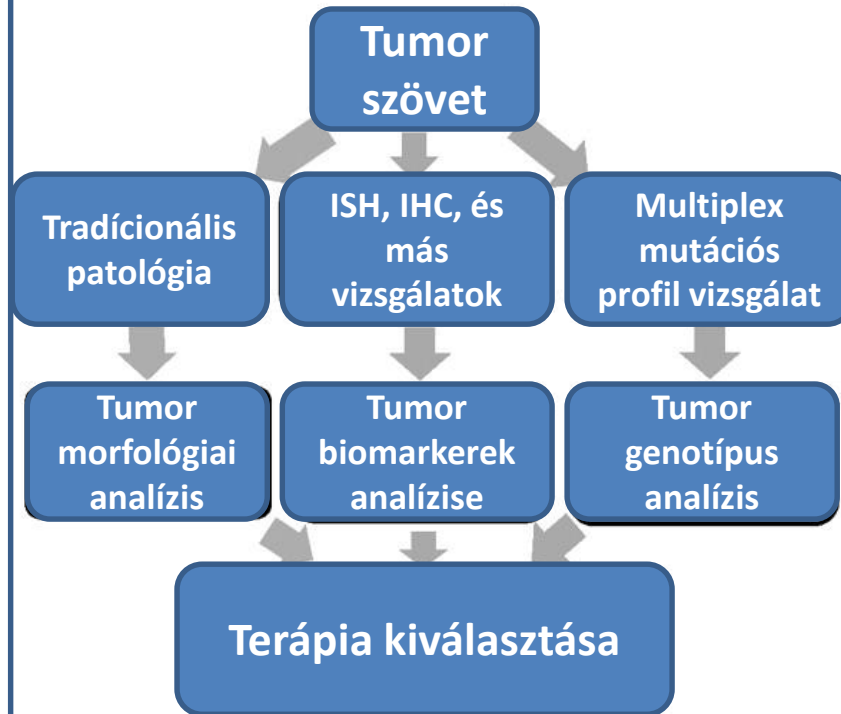
20



A Tradicionális tumor analízis



B Integrált molekuláris analízis

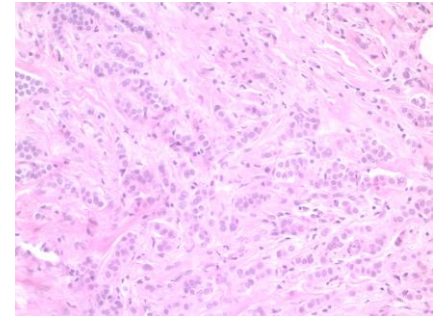
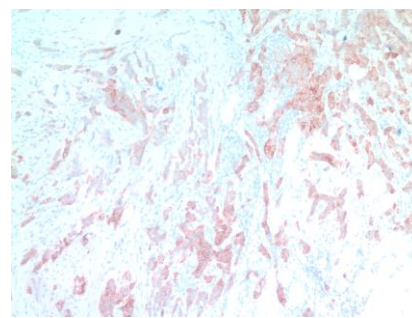
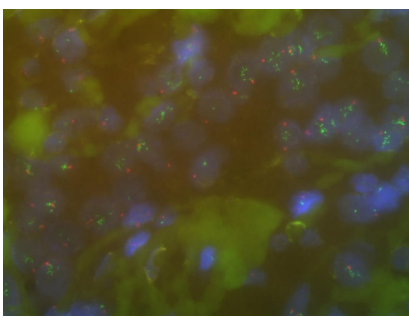


A molekuláris daganatpatológia gyakorlati alkalmazása

1. A patológiai diagnózis segítése.
2. Prediktív és prognosztikai génelváltozások meghatározása.
 - Célzott daganatellenes terápia által megkívánt génmutációk kimutatása.

Molekuláris patológiai diagnosztikai módszerek

- Immunhisztokémia
 - Fehérjék kimutatására
- In situ hibridizáció
 - Hosszabb DNS szakaszok, transzlokációk, amplifikációk vizsgálatára
- PCR alapú módszerek
 - kisebb eltérések, mutációk detektálása DNS-ből
- Szekvenálás
- Új generációs szekvenálás (NGS – next generation sequencing)
 - érzékeny módszer és több beteg mintájából számos gén egyidejű vizsgálatát teszi lehetővé



Gén 1
Gén 2
Gén 3
Gén 4
Gén 5
Gén ...
Gén n

RNS



Fehérje 1
Fehérje 2
Fehérje 3
Fehérje 4
Fehérje 5
Fehérje ...
Fehérje n

Morfológia



PCR
ISH
Szekvenálás

Gén-expresszió
RT-PCR

Immunhisztokémia

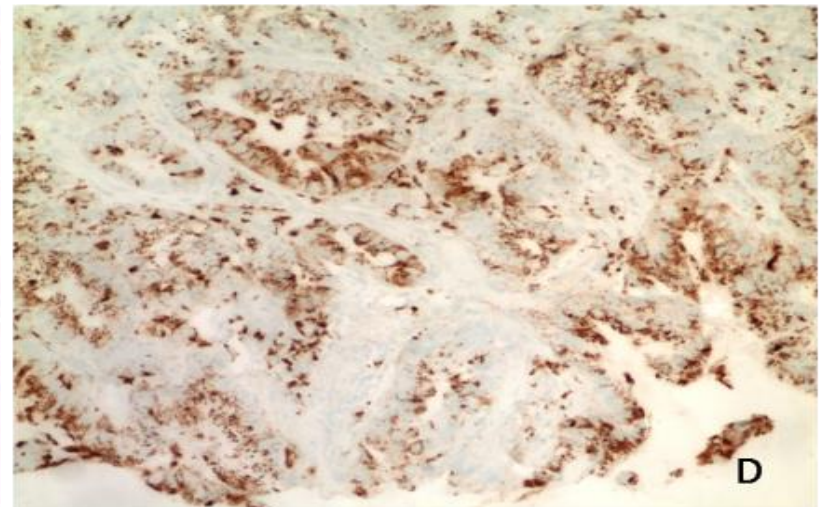
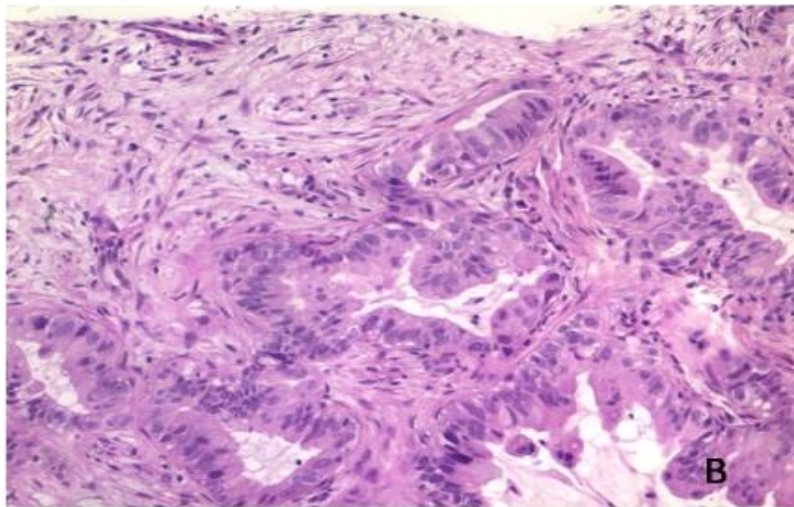
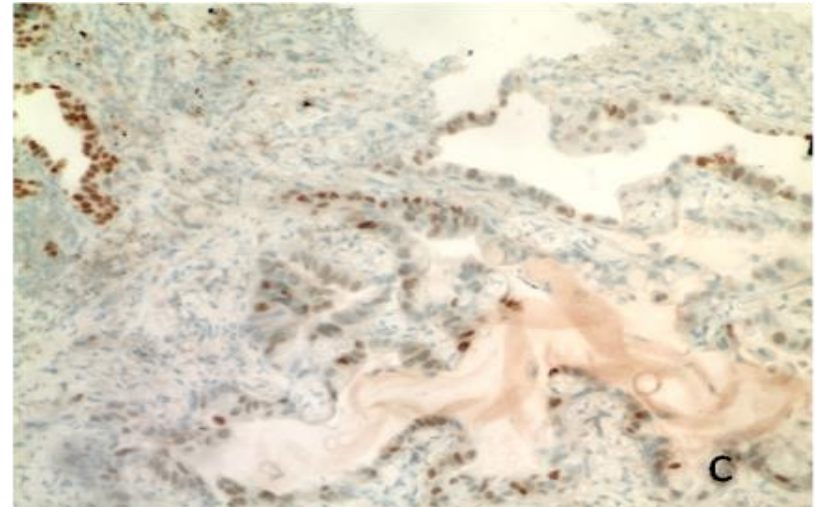
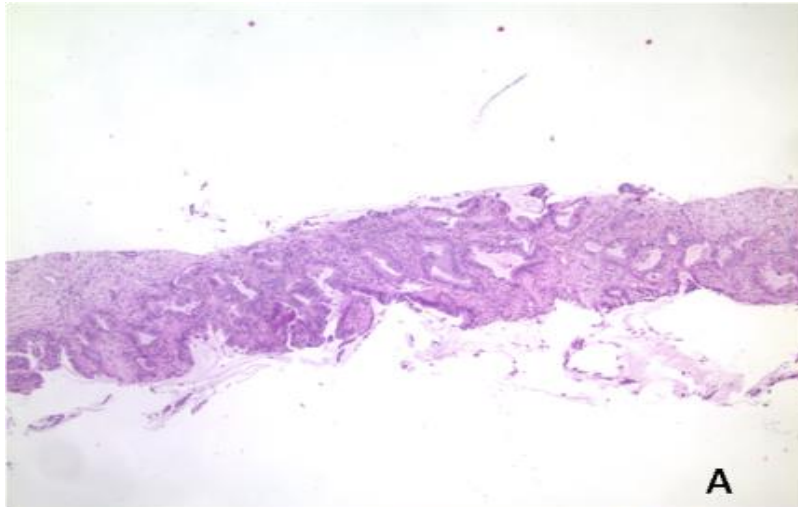


Molekuláris módszerek

A molekuláris daganatpatológia gyakorlati alkalmazása

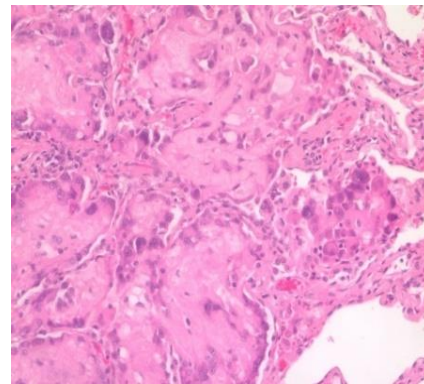
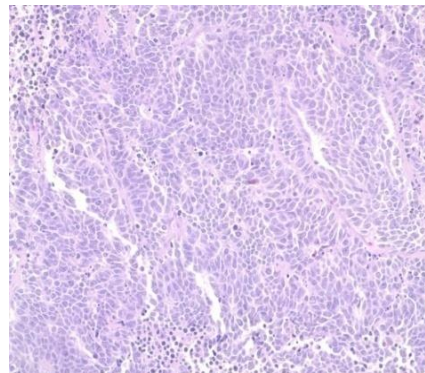
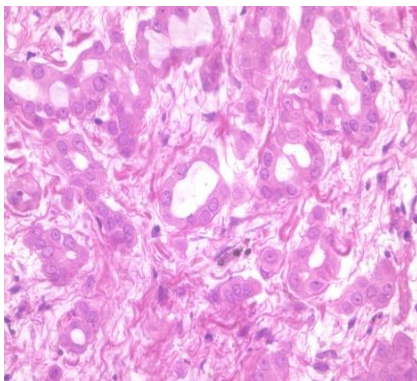
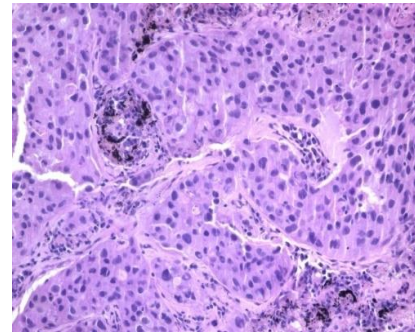
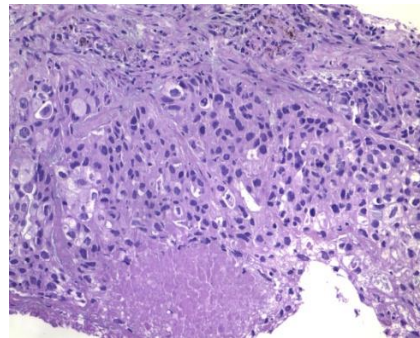
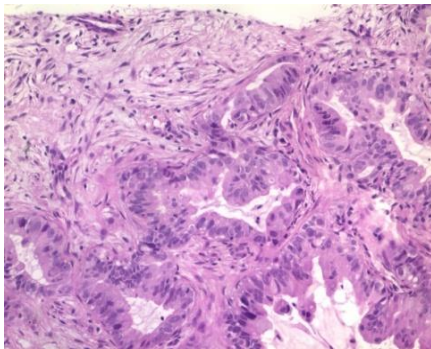
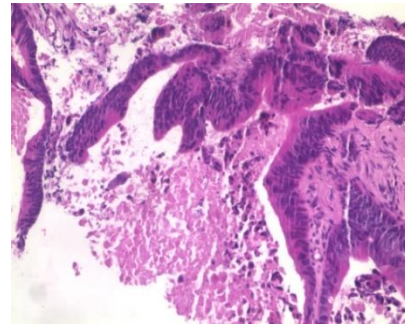
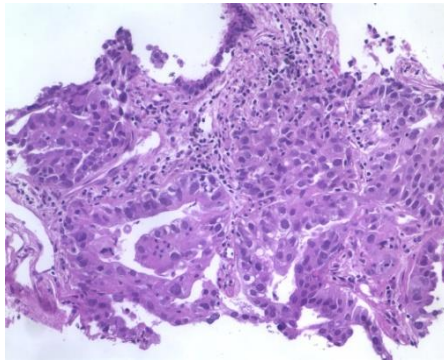
- **A patológiai diagnózis segítése.**
 - Adott daganatra jellemző fehérje és/vagy genetikai elváltozások detektálása
 - **Immunhisztokémia – tumor típus specifikus fehérje expresszió**
 - Emlő carcinoma: ER, GATA3
 - Vastagbél adenocarcinoma: CDX2
 - Tüdő adenocarcinoma: TTF1, Napsin-A
 - **In situ hybridizáció, RT-PCR, szekvenálás – tumor típusra jellemző genetikai eltérés**
 - Transzlokációk sarcomákban, lymphomákban
 - » Ewing sarcoma: t(11;22) → EWS-FLI1
 - » Synovial sarcoma: t(X;18) → SYT-SSX1
 - » Epithelioid hemangioendothelioma: t(1;3) → WWTR1-CAMTA1

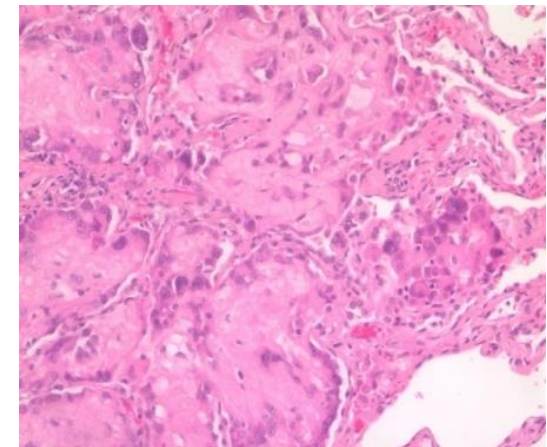
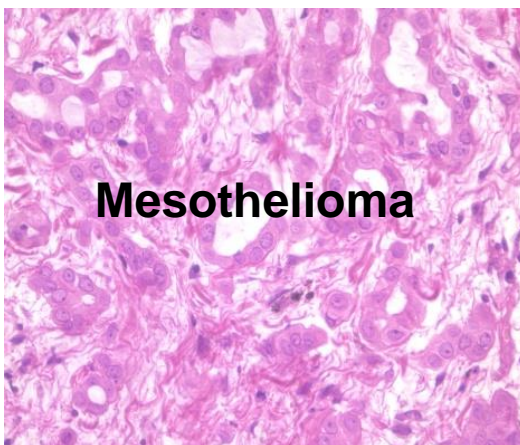
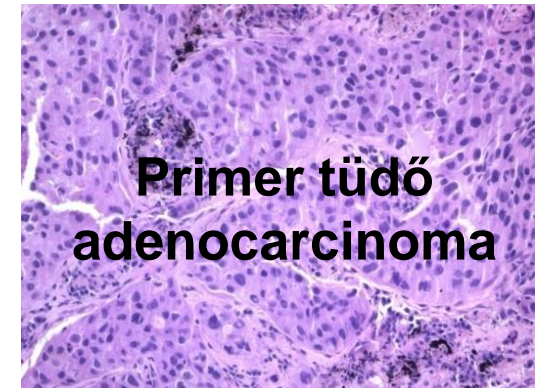
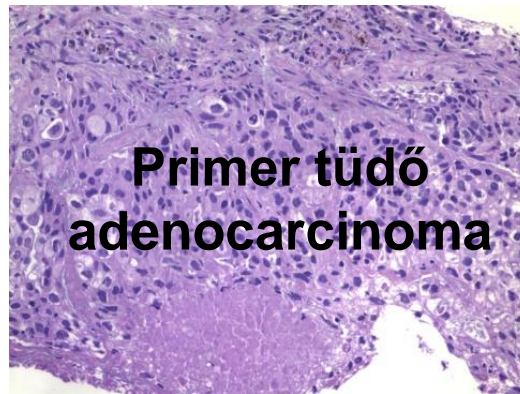
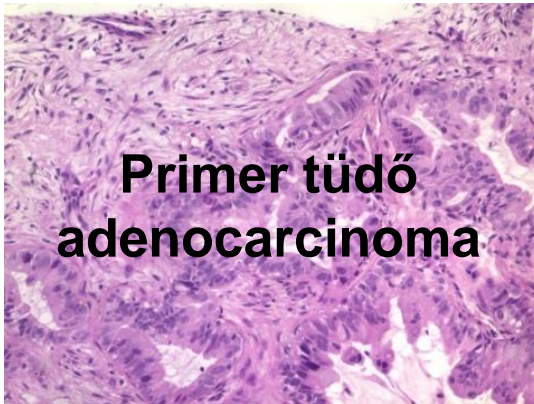
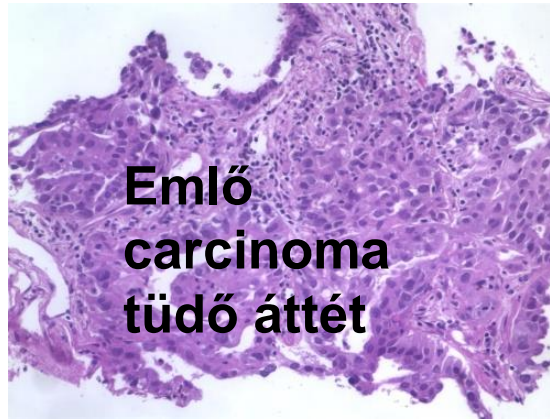
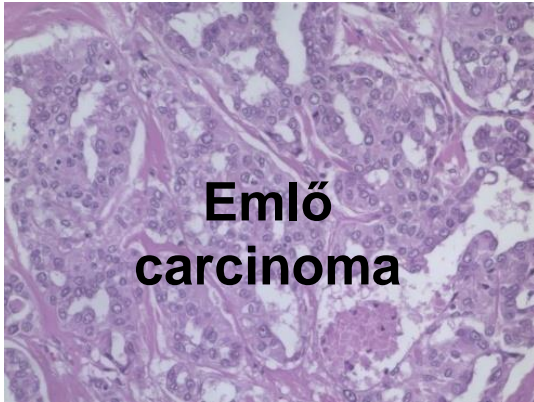
Tüdő adenocarcinoma core biopsziás minta



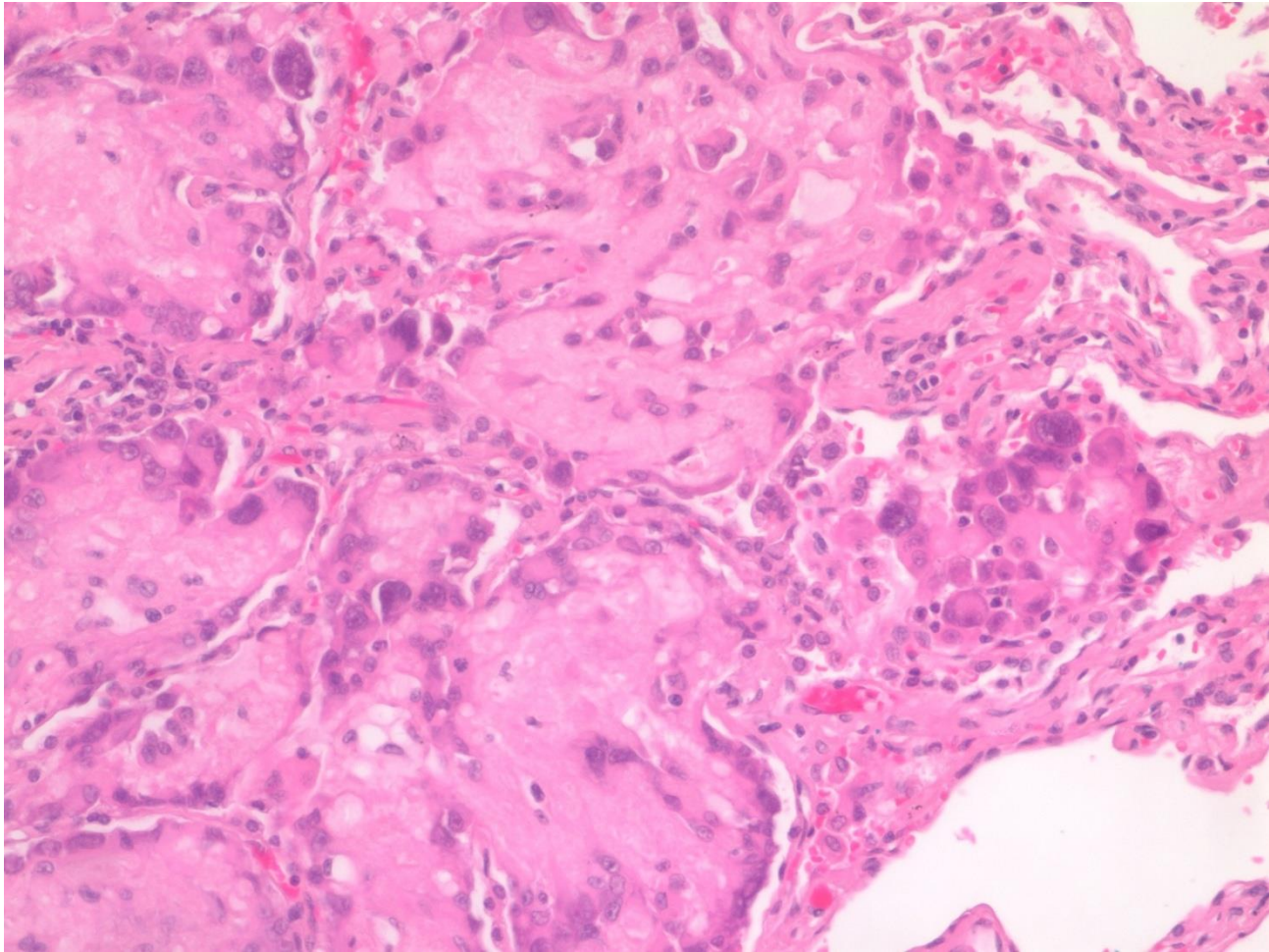
A: HE-festés, 4X. B: HE-festés, 20X. C: TTF1 immunhisztokémiai reakció, 20X. D: Napsin-A immunhisztokémiai reakció, 20X.

Tüdődaganatok HE-festett metszetei

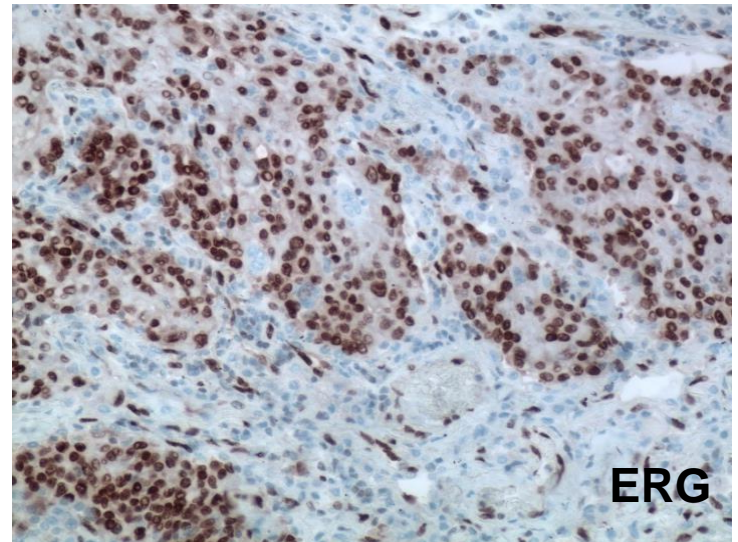
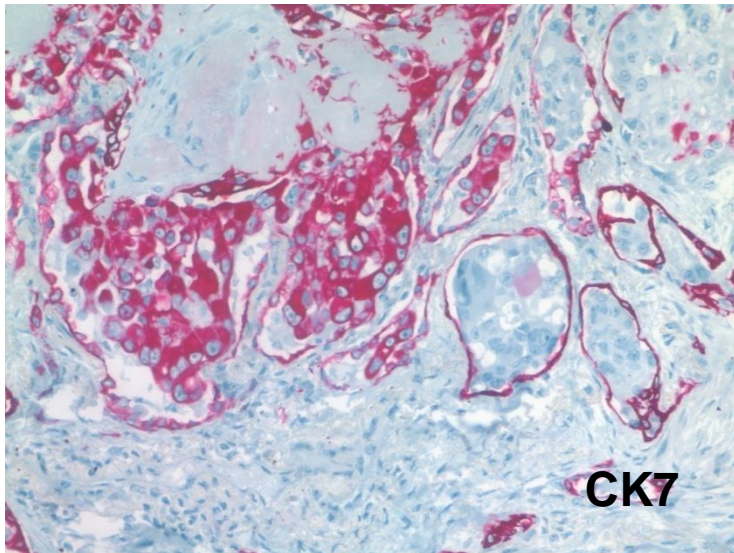
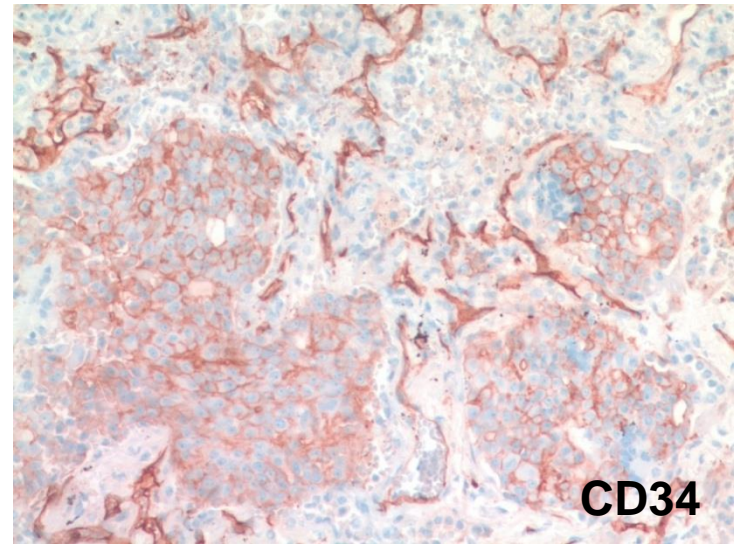
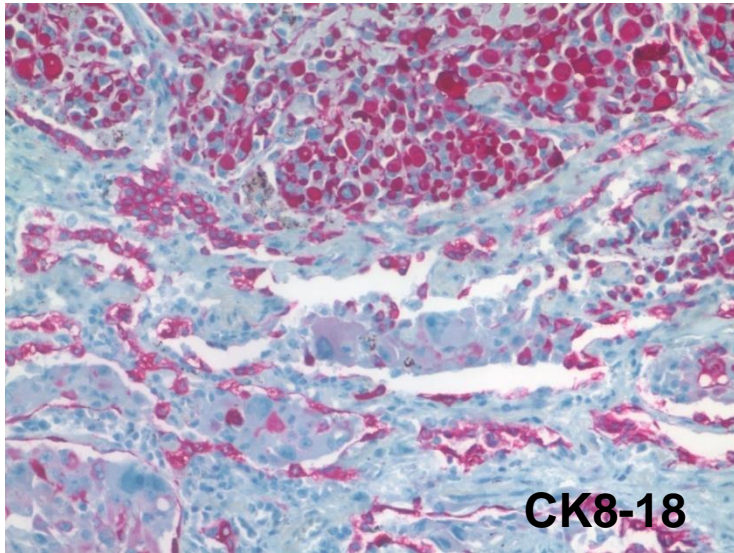




Immunohisztokémia ritka tüdődaganatok diagnosztikájában



Immunhisztokémia



Hám markerek

Vascularis markerek

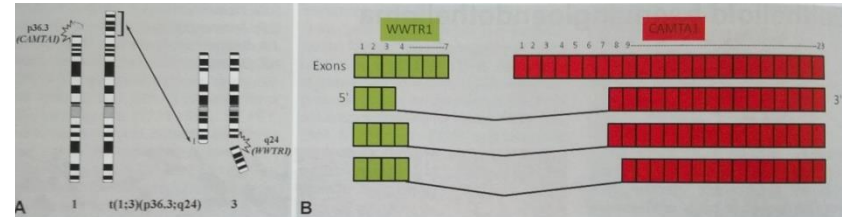
Epithelioid hemangioendothelioma

- Malignus vascularis tumor, de az esetek többségében indolens viselkedésű
- Lágyszövetekben, csontban, bőrben és különböző parenchymás szervekben, így *tüdőben is*
- *Ritka tumor*, széles koreloszlás, különböző anatómiai lokalizációk, néhány esetben korai áttét, multifokálitás
 - *Differenciáldiagnosztika széleskörű*

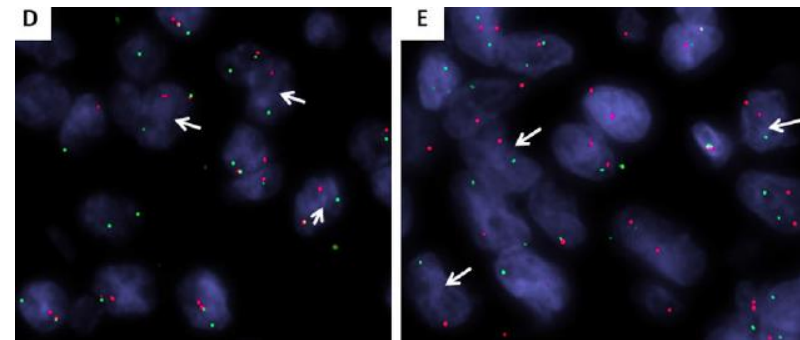
Epithelioid hemangioendothelioma

Fúziós gének

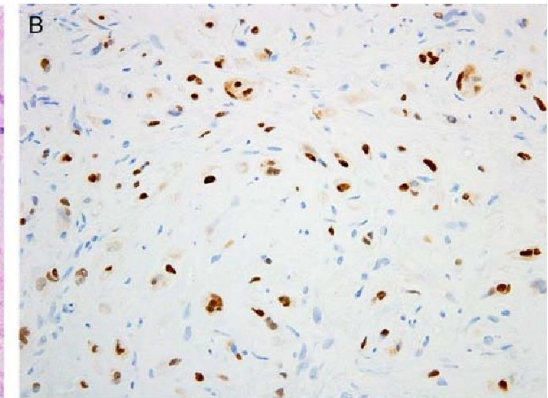
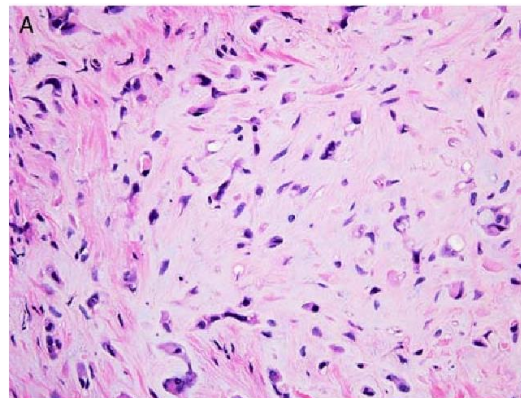
- 1. t(1;3) → **WWTR1-CAMTA1** (túlnyomórészt)
 - WWTR1 (TAZ): transzkripciós ko-aktivátor
 - CAMTA1: calmodulin-kötő transzkripciós aktivátor
- 2. t(11;X) → **YAP1-TFE3** (nagyon ritka)
 - YAP1: transzkripciós ko-aktivátor
 - TFE3: transzkripciós faktor
- **Epithelioid angiosarcomában nincsenek ezek a fúziós gének**
- Kimutatás:
 - RT-PCR
 - **FISH**
 - **Immunhisztokémia**



WHO 2015



AJSP.2015;39:132-139



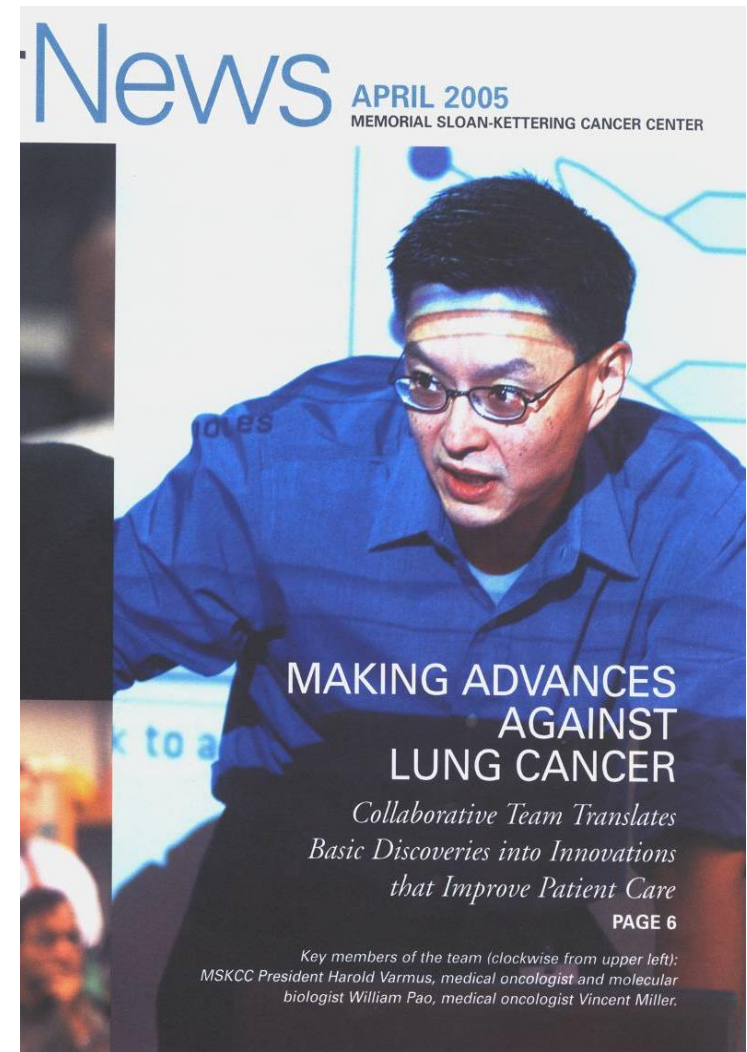
A molekuláris daganatpatológia gyakorlati alkalmazása

- 2. Prediktív és prognosztikai génelváltozások meghatározása.
- - Célzott daganatellenes terápia által megkívánt génmutációk kimutatása.

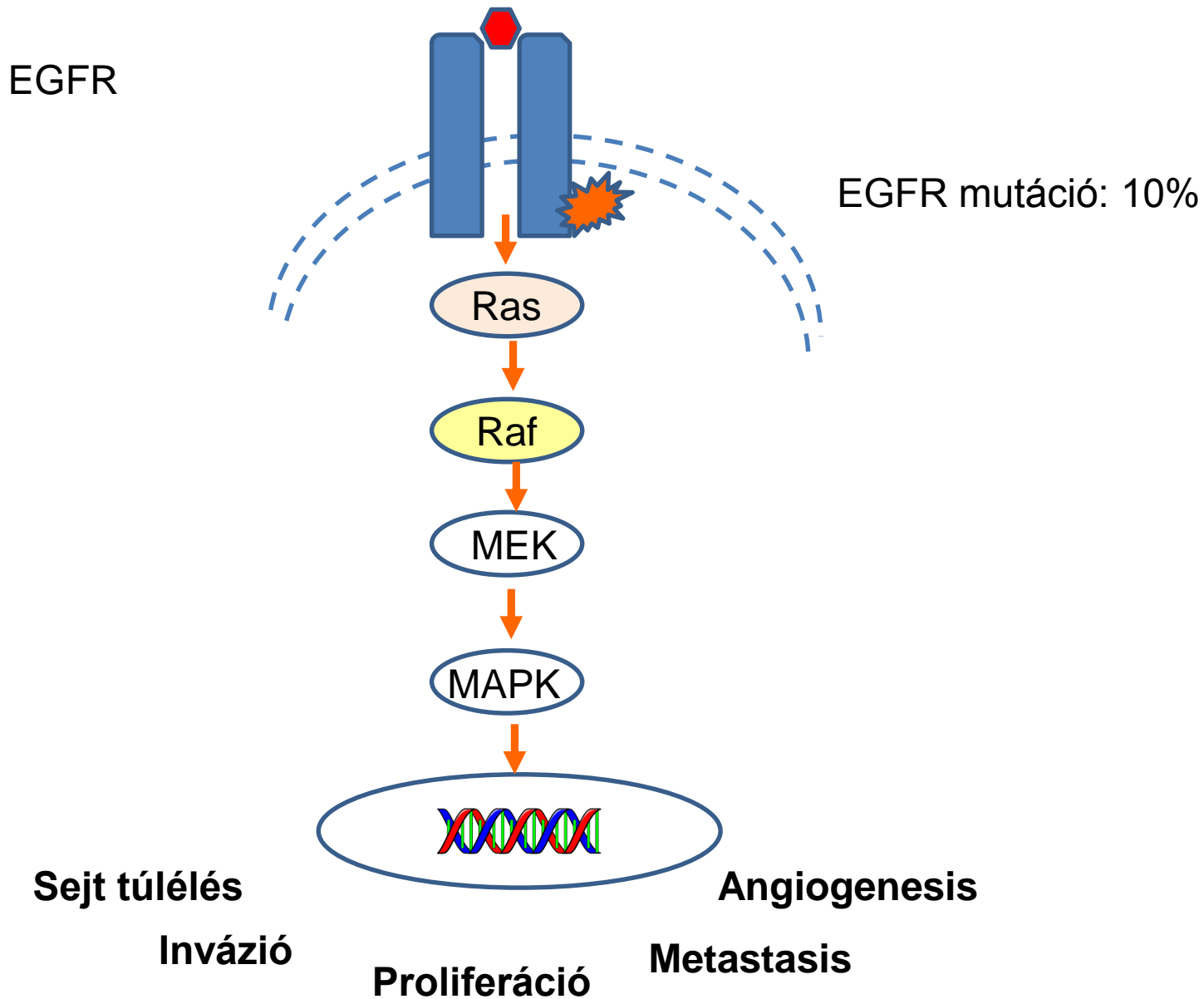
Tumor típus	Gén	Eltérés	Gyógyszer/ indikáció
Tüdő adenocarcinoma	EGFR	mutáció	EGFR TKI érzékenység
	RAS	mutáció	EGFR TKI rezisztencia
	ALK	transzlokáció	Crizotinib érzékenység
	ROS1	transzlokáció	Crizotinib érzékenység
Vastagbél adenocarcinoma	KRAS	mutáció	Anti-EGFR rezisztencia
	NRAS	mutáció	Anti-EGFR rezisztencia
	BRAF	mutáció	Negatív prognosztikai faktor
Melanoma	BRAF	mutáció	Vemurafenib érzékenység
Emlő carcinoma	ERBB2 (HER-2)	amplifikáció	Trastuzumab, Lapatinib érzékenység

Epidermalis növekedési faktor receptor (EGFR) gén mutációk tüdő adenocarcinomákban

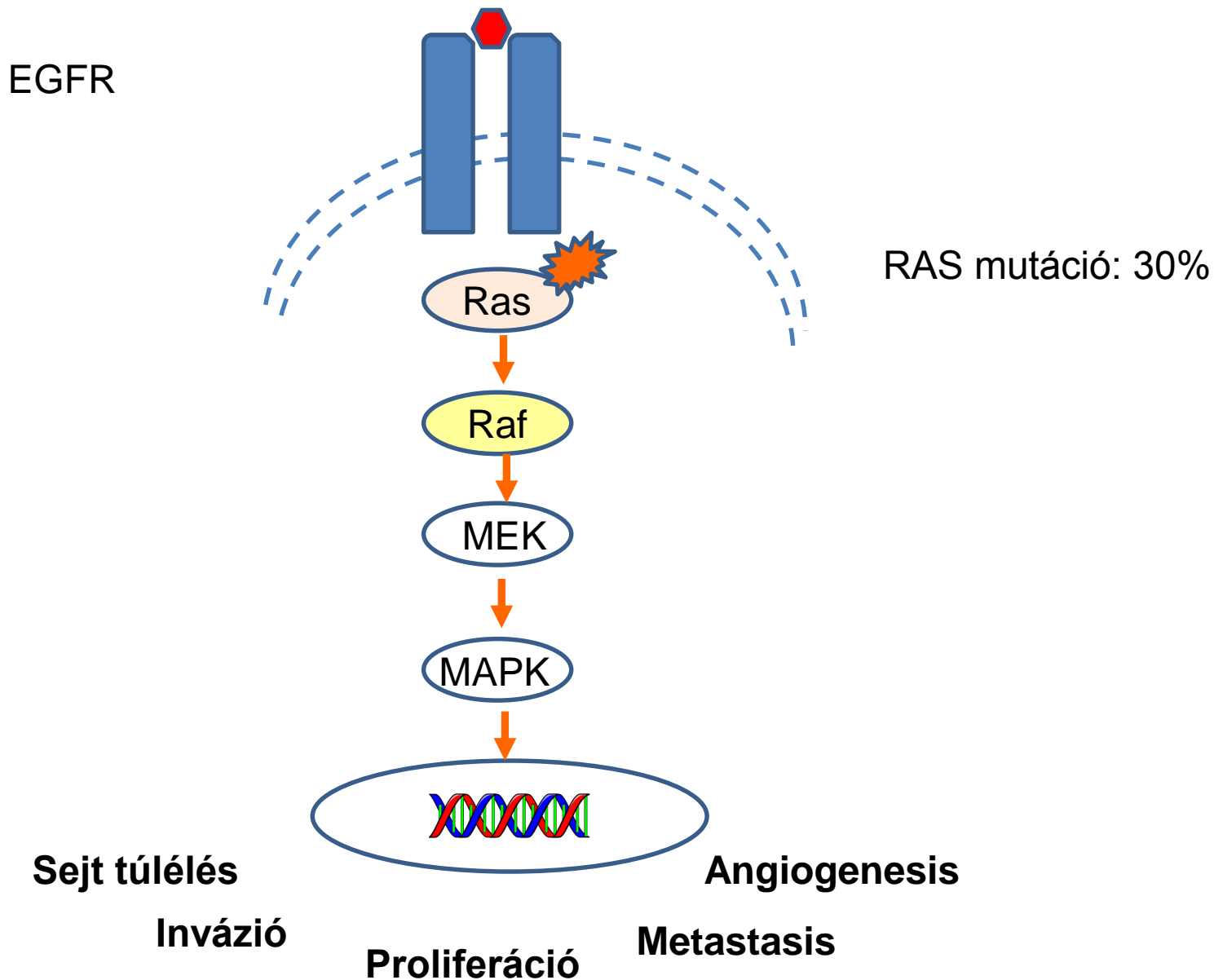
- Lynch, Paez, *Pao* - 2004
 - Szomatikus mutációk az EGFR gén exon 18-21-ben tüdő NSCLC-ben korrelálnak EGFR tirozin kináz inhibitor (TKI) terápiára (erlotinib, gefitinib) adott válasz valószínűségével
 - Nők
 - Adenocarcinoma
 - Nem dohányzók



EGFR (Epidermális növekedési faktor receptor) jelátviteli út károsodása tüdő adenocarcinómában

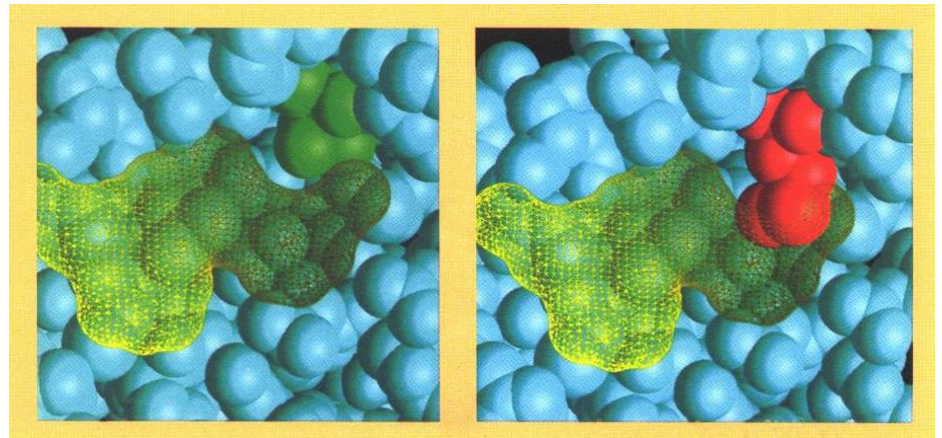


EGFR (Epidermális növekedési faktor receptor) jelátviteli út károsodása tüdő adenocarcinómában



EGFR mutációk tüdő ACA-ban

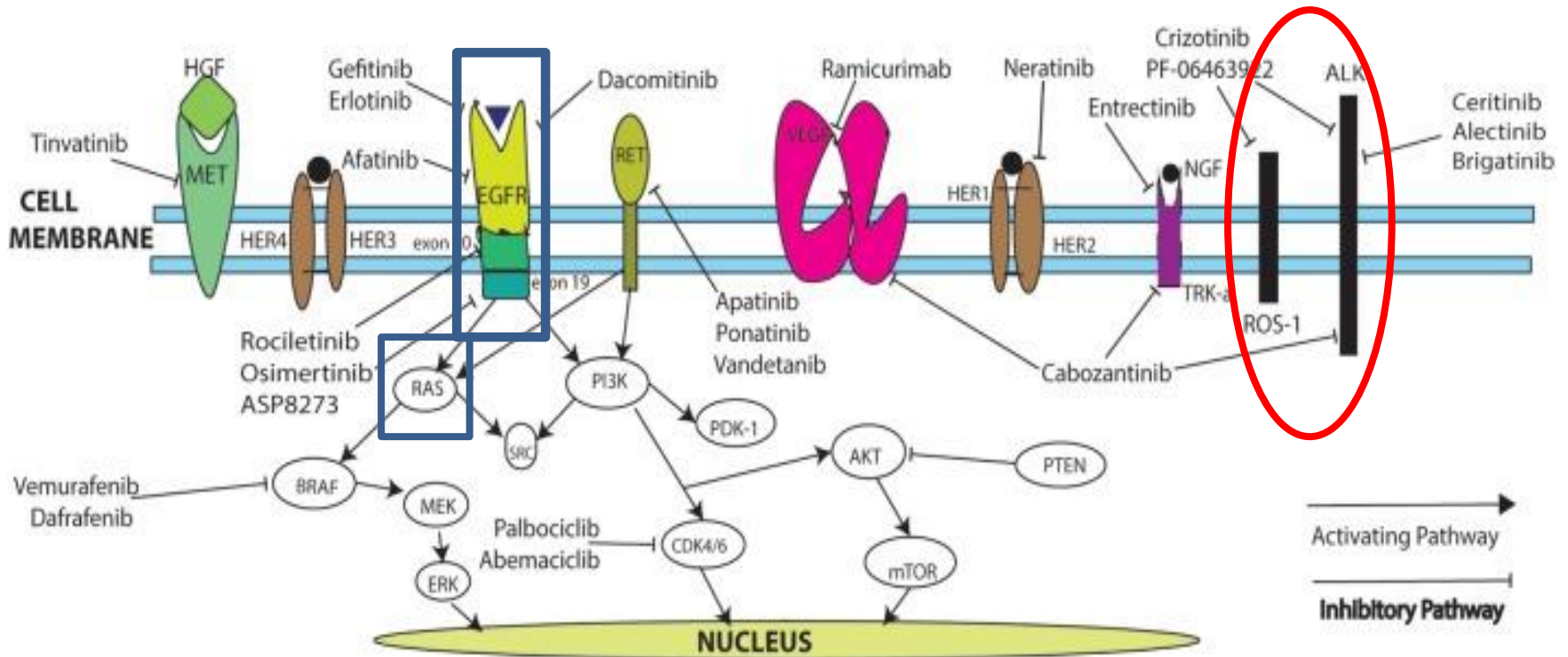
- Az EGFR mutációt hordozó és TKI-val kezelt betegek hosszabb túlélést mutatnak
- Rezisztencia TKI-ra
 - Primer:
 - KRAS exon 2 mutációk (exkluzív az EGFR mutációval)
 - Braf, ErbB2
 - Szekunder:
 - EGFR e20 (T790M)
 - Met amplifikáció



Főbb genetikai elváltozások tüdőrákban

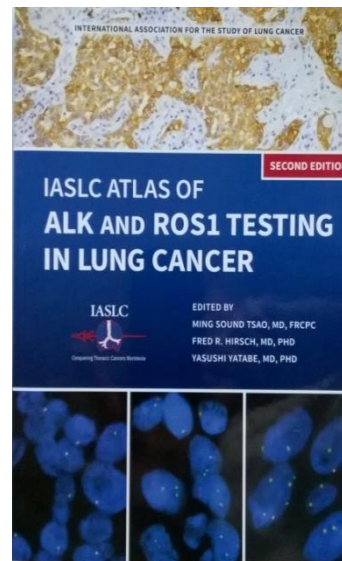
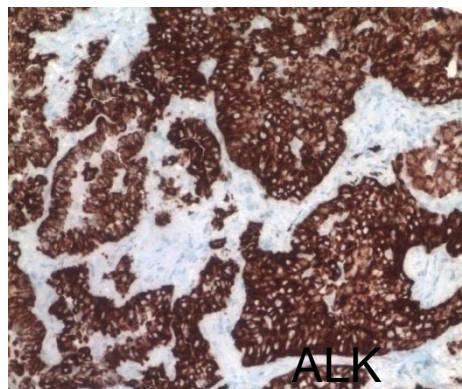
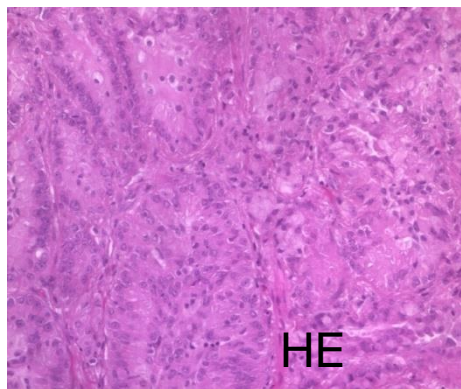
Génelváltozás	SCLC (%)	ACA (%)	SCC (%)
Mutáció			
BRAF	0	< 5	0
EGFR Kaukázusi	< 1	10-20	< 1
Ázsai	< 5	35-45	< 5
ERBB2/HER2	0	< 5	0
KRAS Kaukázusi	< 1	15-35	< 5
Ázsiai	< 1	5-10	< 5
PIK3CA	< 5	< 5	5-15
RB	> 90	5-15	5-15
TP53	> 90	30-40	50-80
Amplifikáció			
EGFR	< 1	5-10	10
ERBB2/HER2	< 1	< 5	< 1
MET	< 1	< 5	< 5
MYC	20-30	5-10	5-10
FGFR1	< 1	< 5	15-25
Génátrendeződés			
ALK	0	5	< 1
RET	0	1-2	0
ROS1	0	1-2	0
NTRK1	0	< 1	0
NRG1	0	< 1	0

Terápiásan célozható jelátviteli utak nem laphám NSCLC-ben



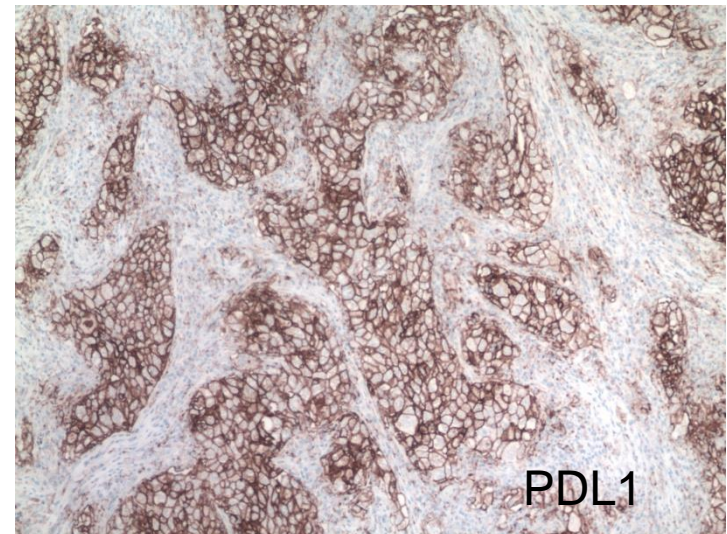
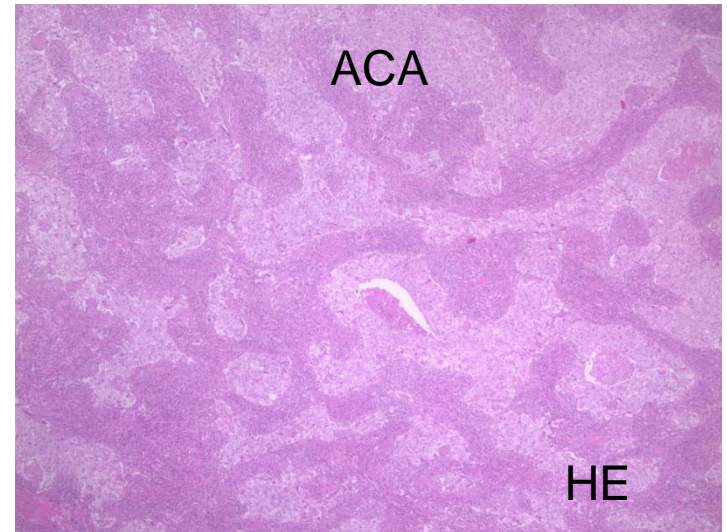
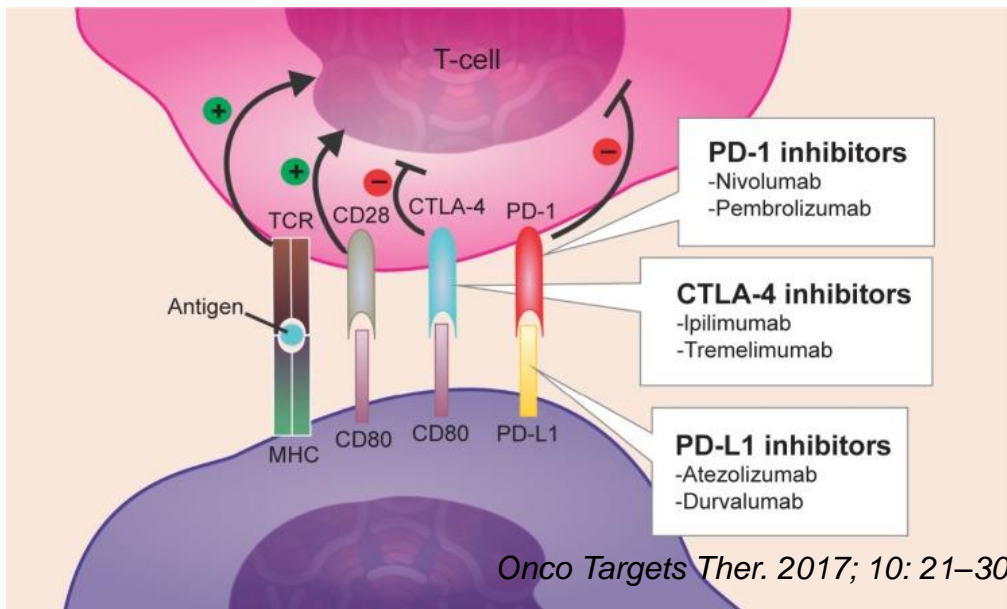
ALK és ROS1 génátrendeződés tüdő adenocarcinomákban

- EML4 (enichoderm microtubule-associated protein-like 4) 2p21 és **ALK** (anaplastic lymphoma kinase) 2p23 gének fúziója egy kis inverzió miatt a 2p-n
- **Tüdő adenocarcinomák 5%-ában**
 - Fiatalabb életkor, nem dohányzó
 - Pecsétgyűrűsejtes, solid, cribriform
- **ALK inhibitor (crizotinib) terápiára reagál**
- A kimutatás lehetőségei:
 - RT-PCR (friss minta), szekvenálás
 - **FISH** (gold standard, legalább 50-100 sejt kell)
 - **IHC** (szűrővizsgálatként vagy validált antitesttel diagnosztikusan is alkalmazható)
- Reactive oxygen species 1 – **ROS1** gén
- Tyrozin kináz receptor fehérje, hasonló az ALK-hoz
- Tüdő adenocarcinomák 1-2%-ában génátrendeződés (ROS1-CD74 leggyakrabban)
 - Nincs összefüggés szubtypussal és/vagy hisztológiai grade-del
 - Nem dohányzó nőkben gyakoribb
- **ROS1 gátló (crizotinib) terápiára reagál**
- **Kimutatás:**
 - RT-PCR (friss minta), szekvenálás
 - **FISH** (gold standard)
 - **IHC**

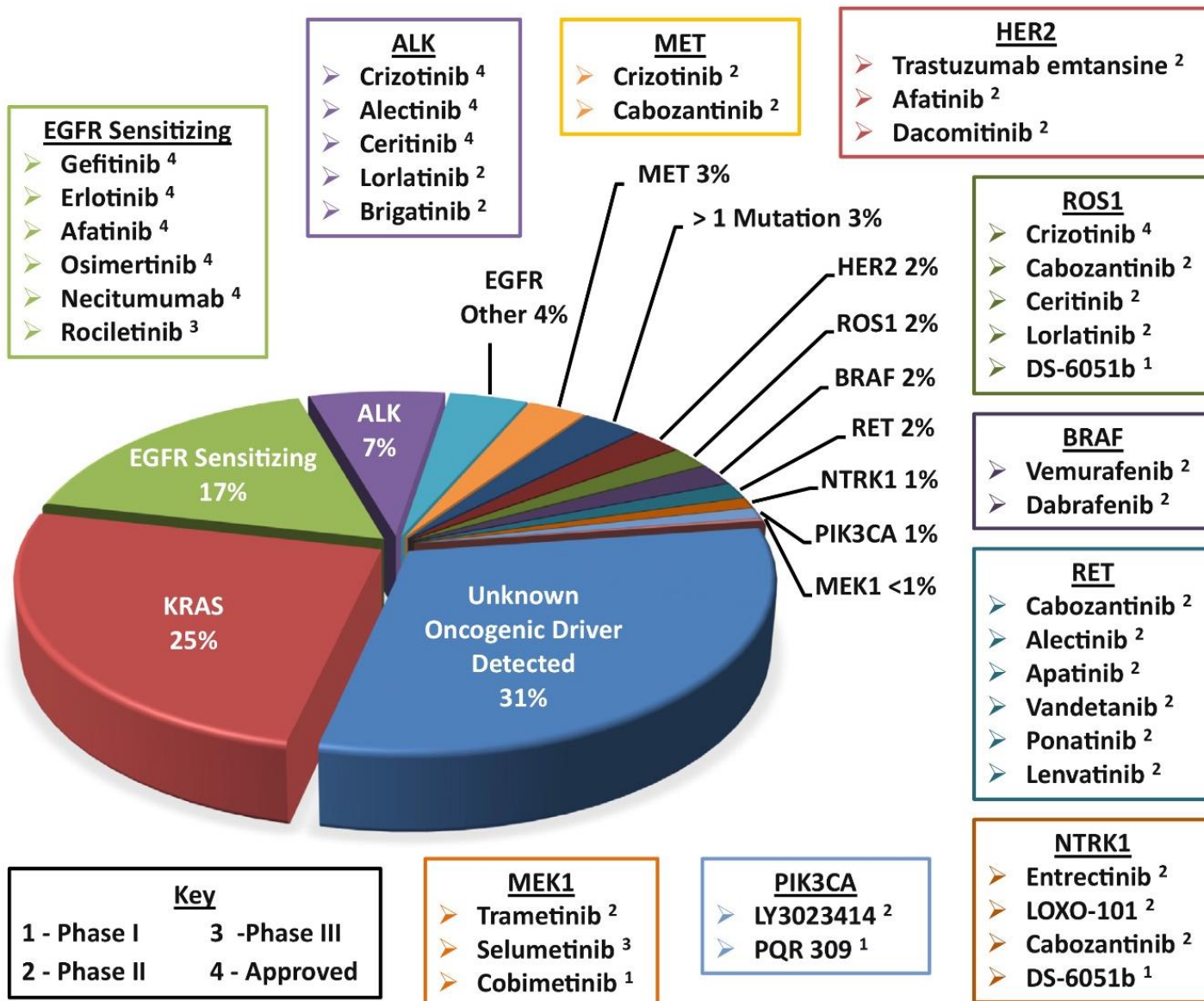


Immunterápia

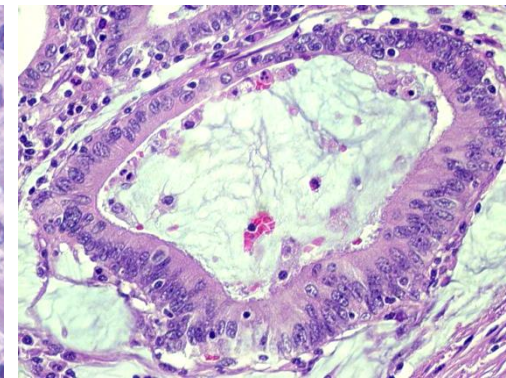
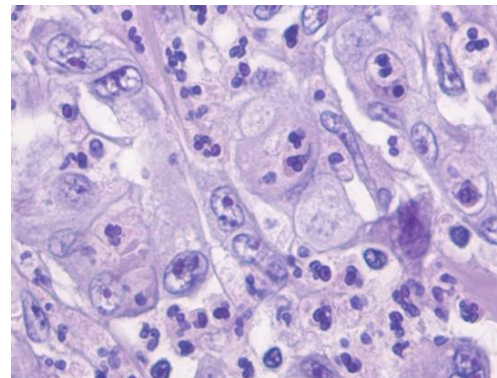
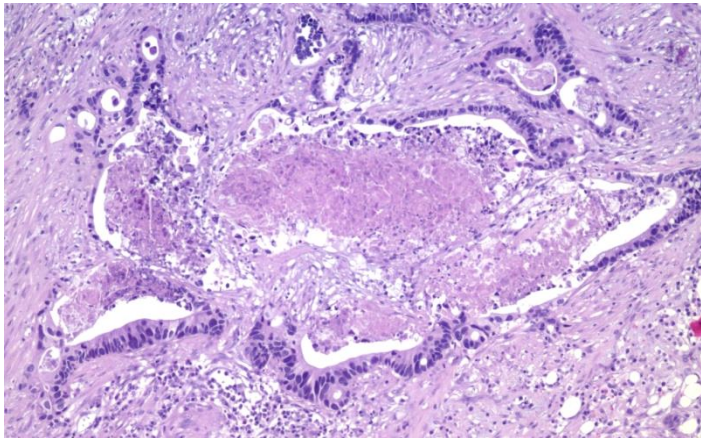
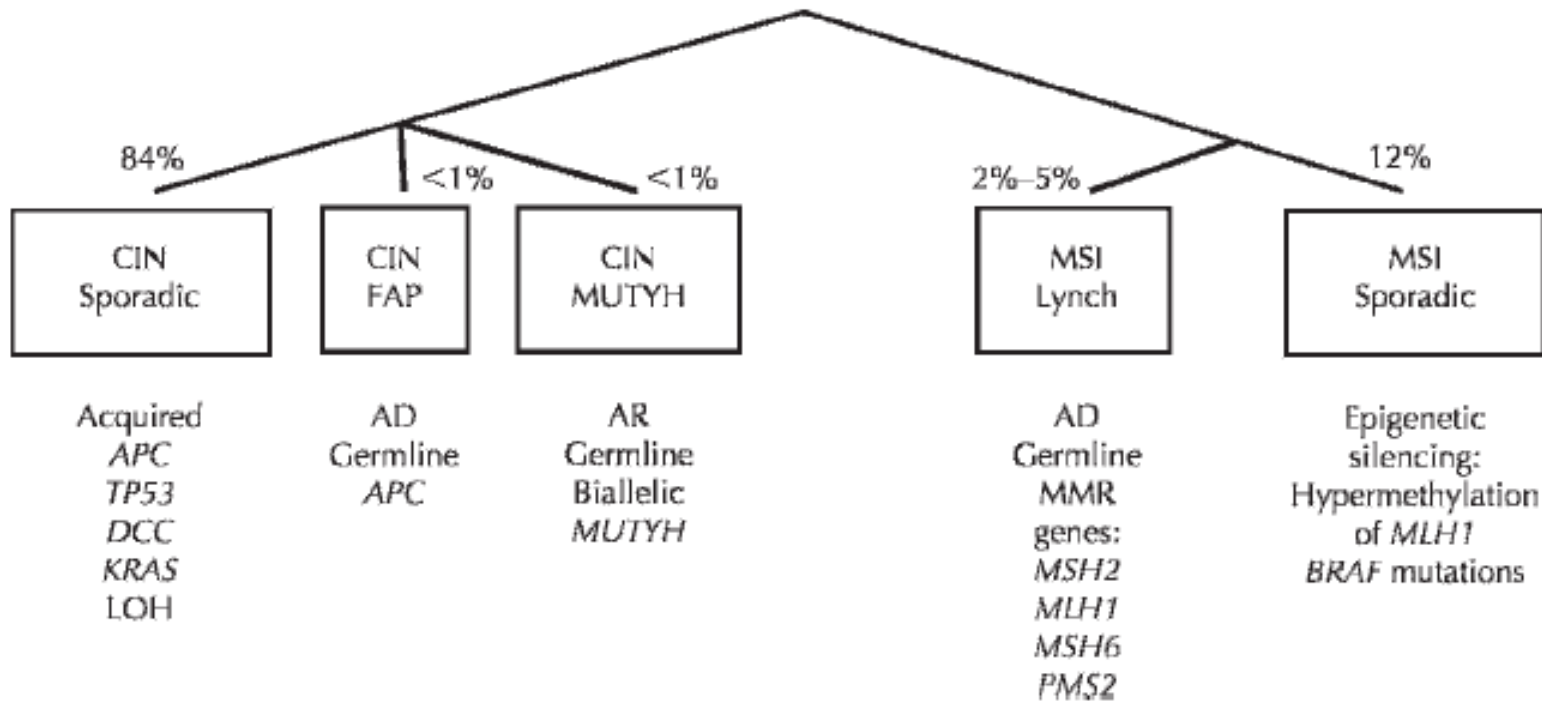
PD1-PDL1 gátlás nem kissejtes tüdőcarcinomákban



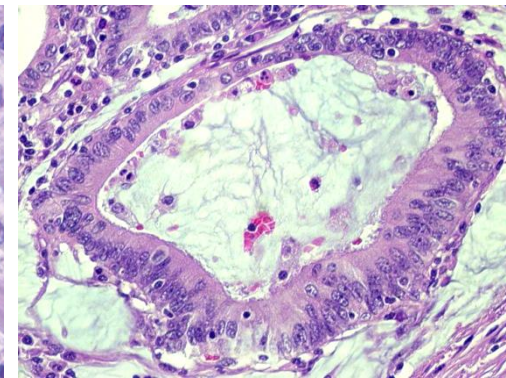
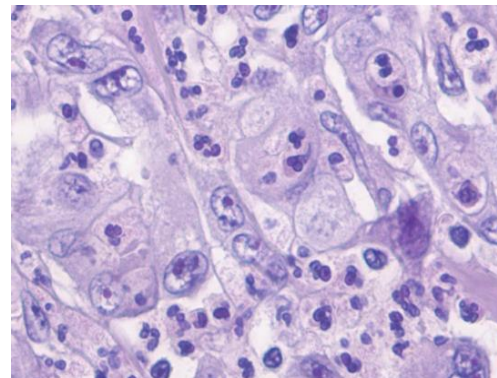
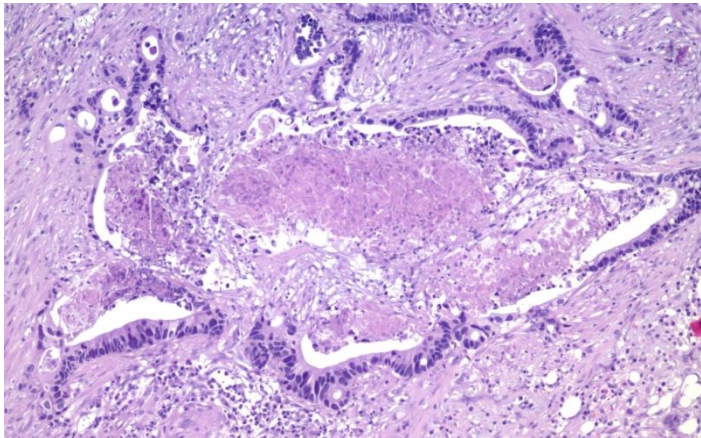
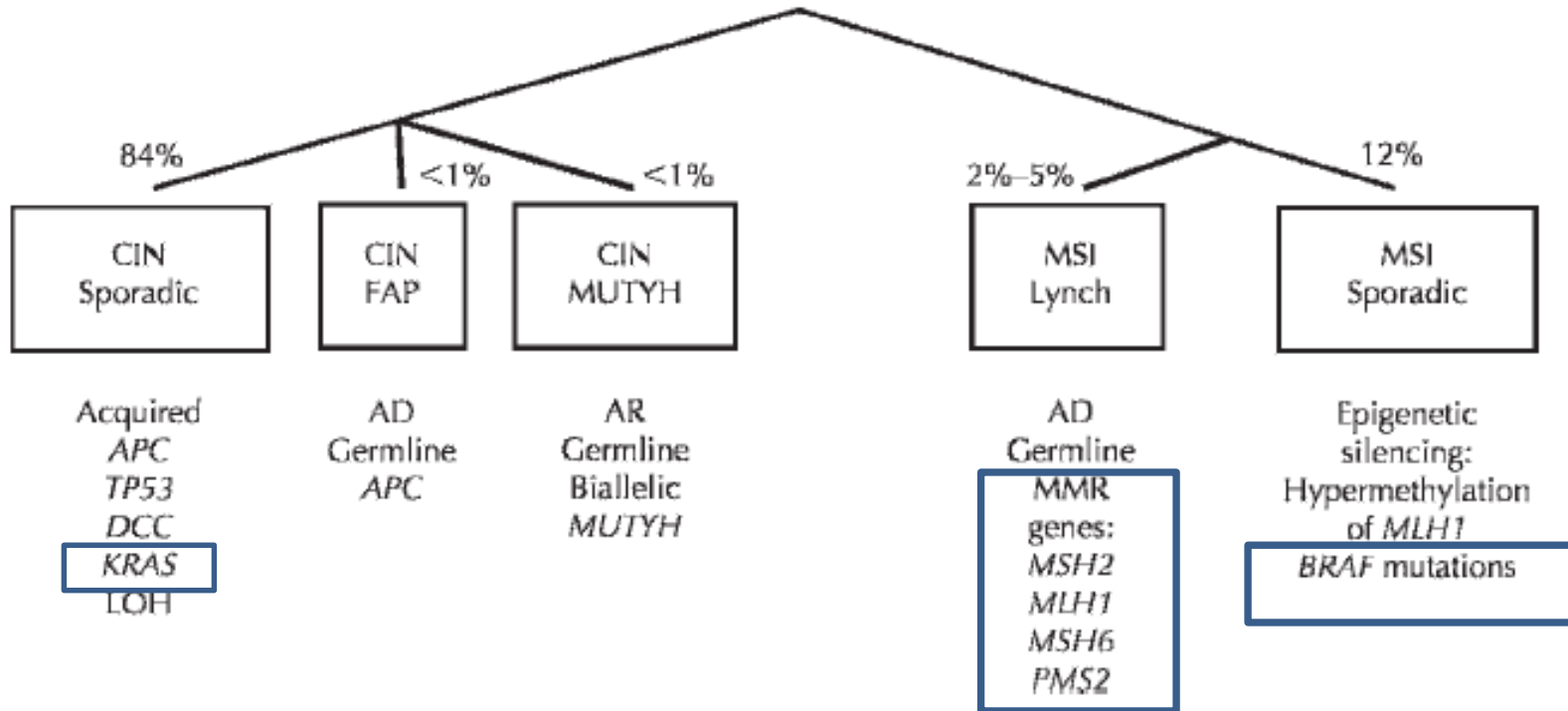
Biomarker: PDL1 expresszió - IHC



Colorectalis carcinoma molekuláris klasszifikáció



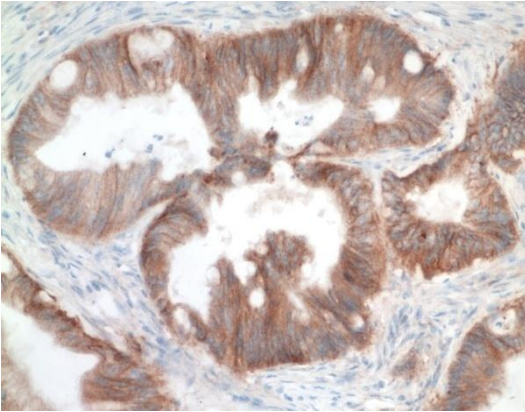
Colorectalis carcinoma molekuláris klasszifikáció



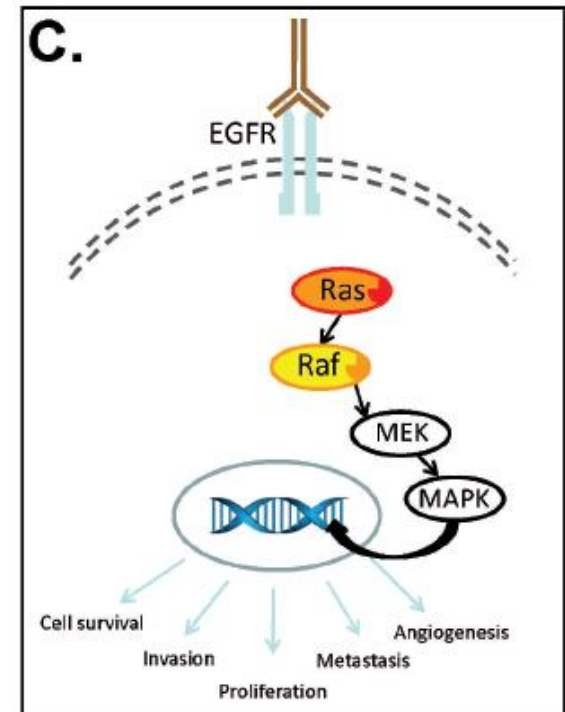
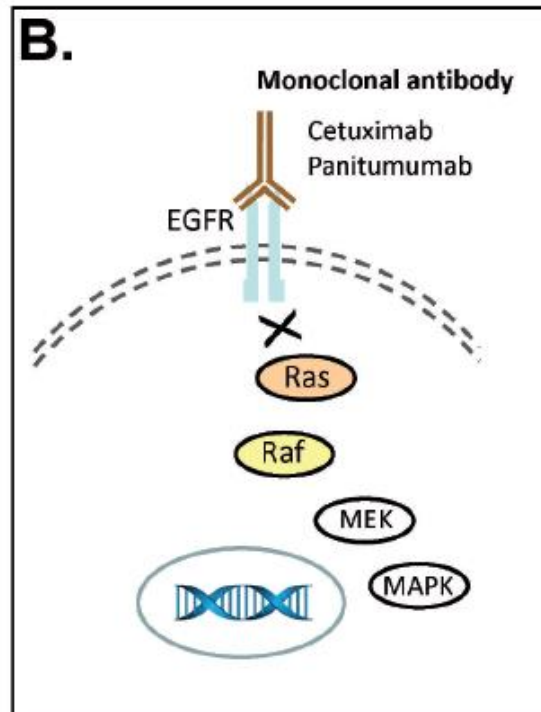
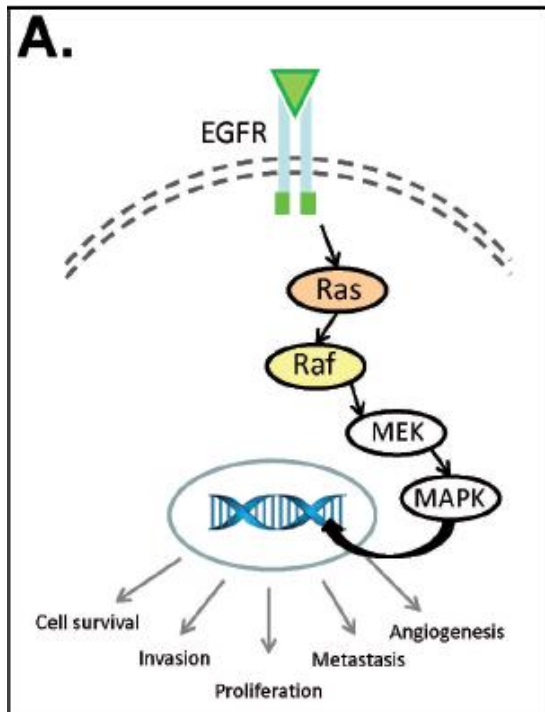
Vastagbél adenocarcinoma

- **Anti-EGFR terápia előtt a KRAS és NRAS gén 2 exon 12, 13 kodon, 3 exon 59, 61 kodon és a 4 exon 117 és 146 kodon vizsgálata szükséges. A RAS gén mutációja anti-EGFR terápiával szembeni rezisztenciát jelez.**
 - A vastagbél daganatok 50%-ában van jelen mutáció.
- **BRAF 15 exon mutáció vizsgálata. Mutáció jelenléte negatív prognosztikai faktor,** ezt a mutációt hordozó daganatok kedvezőtlenebb biológiai viselkedést mutatnak. Emellett a **BRAF mutáció utalhat sporadikus (nem örökletes) mikroszatellita instabilitásra.**
 - A vastagbél daganatok 10-15%-ában van jelen mutáció.
- **Mikroszatellita instabilitás vizsgálata** történhet a DNS hibajavítást végző enzim fehérjék, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 vizsgálatával, illetve mikroszatellita markerekkel. A legújabb vizsgálatok szerint a kifejezett mikroszatellita instabilitást mutató **daganatok jól reagálnak immunterápiákra.**

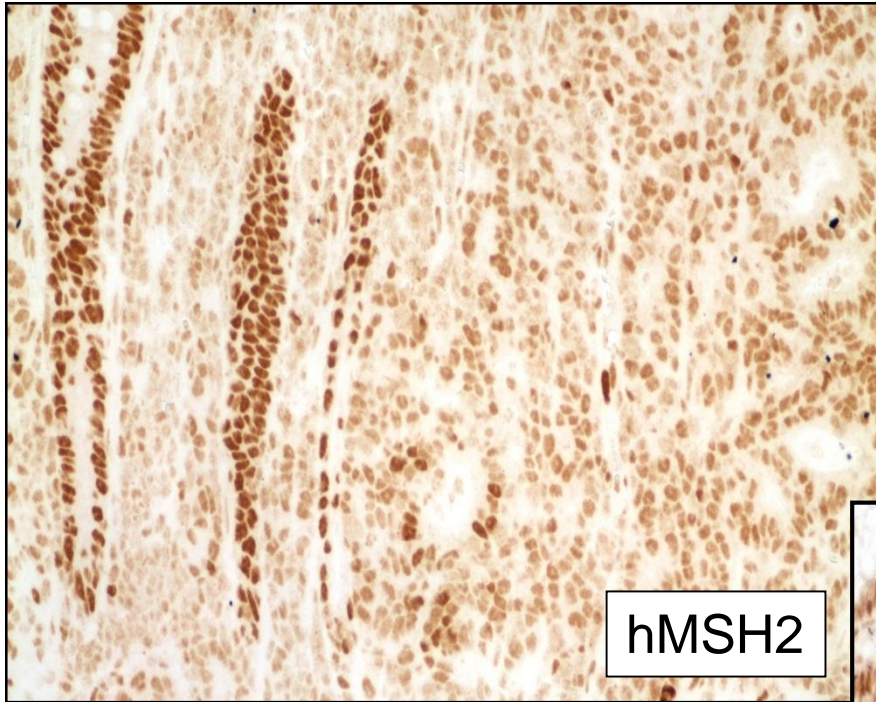
Anti-EGFR terápia molekuláris alapja CRC-ben



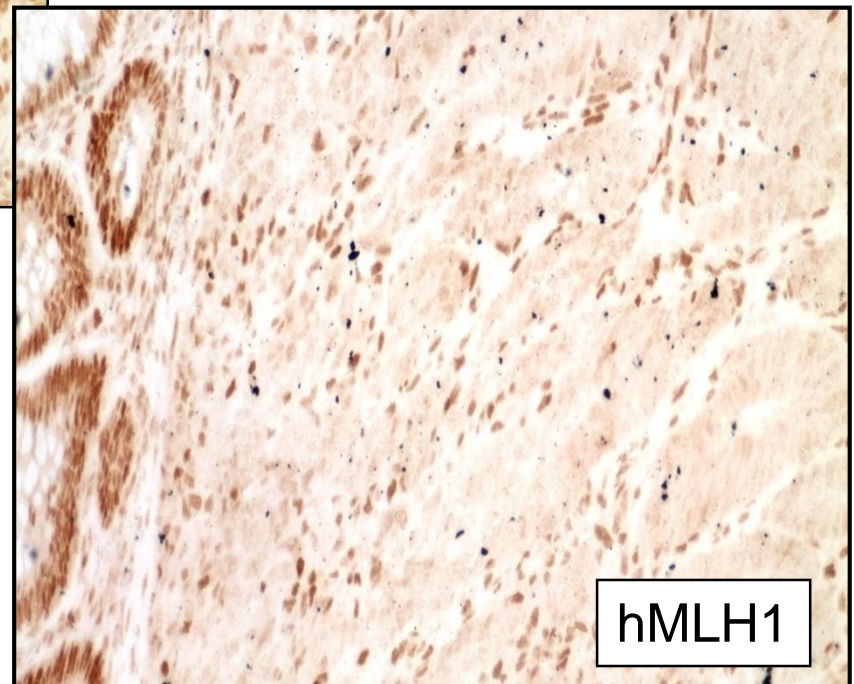
KRAS mutáció: EGFR-től független szignálút aktiváció



MSI vizsgálata immunhisztokémiával

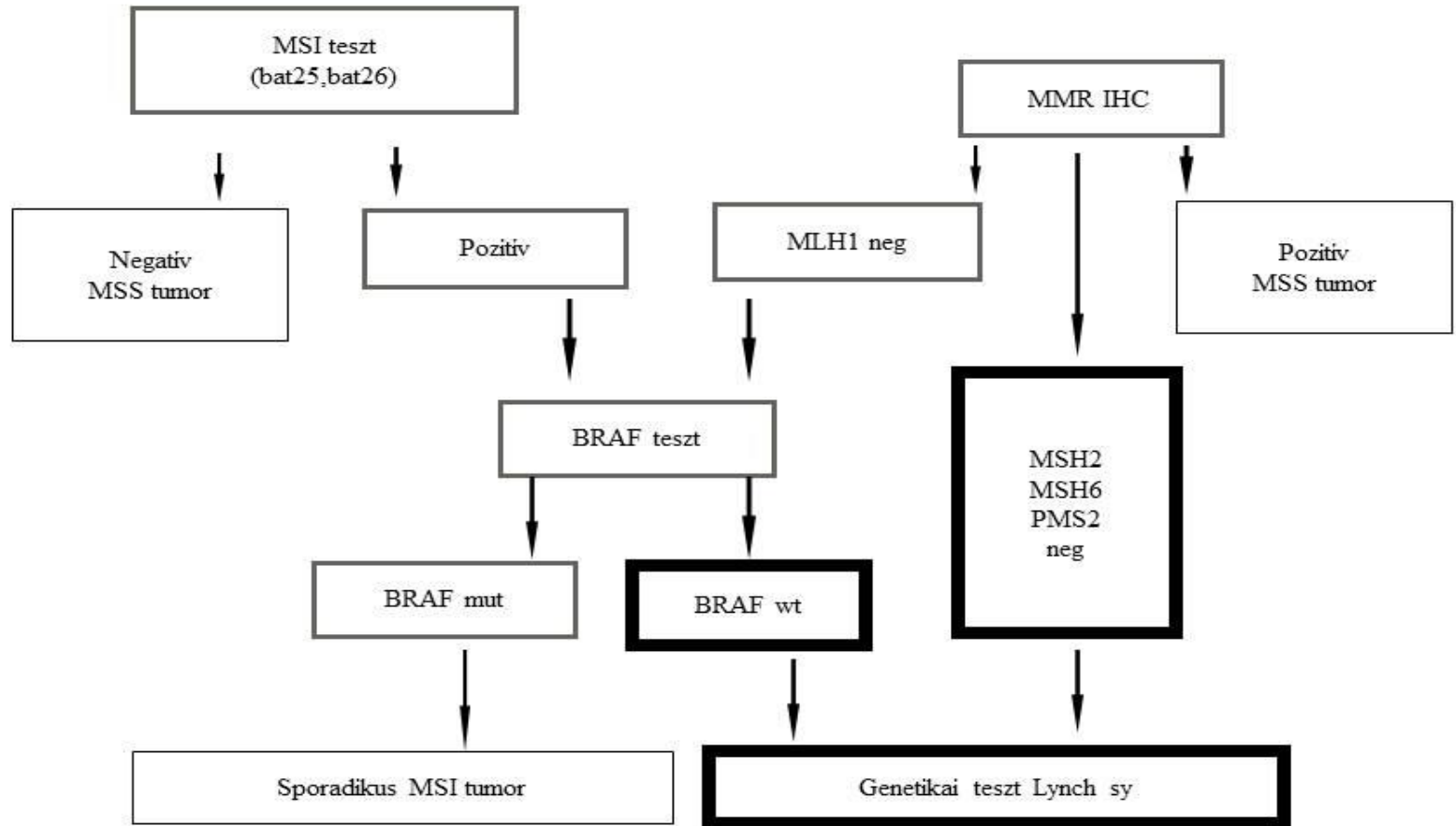


Sporadikus MSI-H CRC
MLH1 gén működésének
kiesése



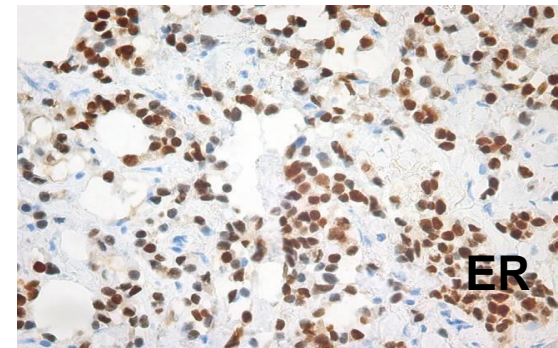
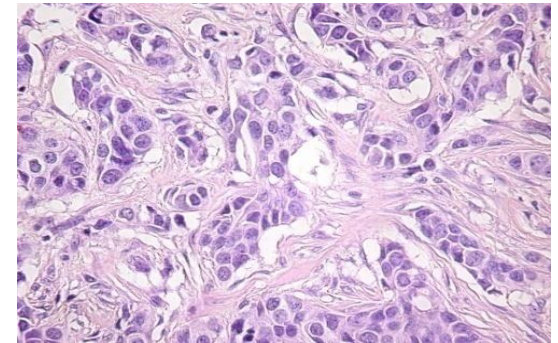
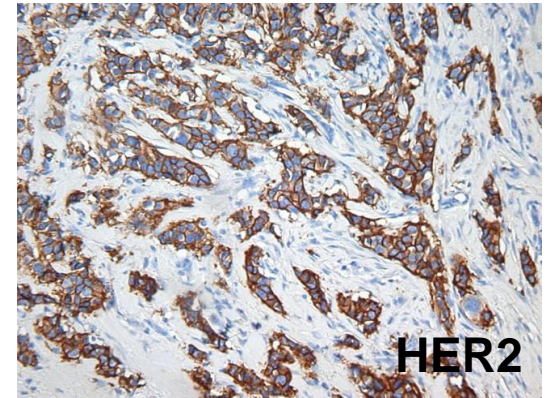
Szenzitivitás 70-100%,
Specifitás 98-100%.

MSI vizsgálata vastagbél adenocarcinomákban

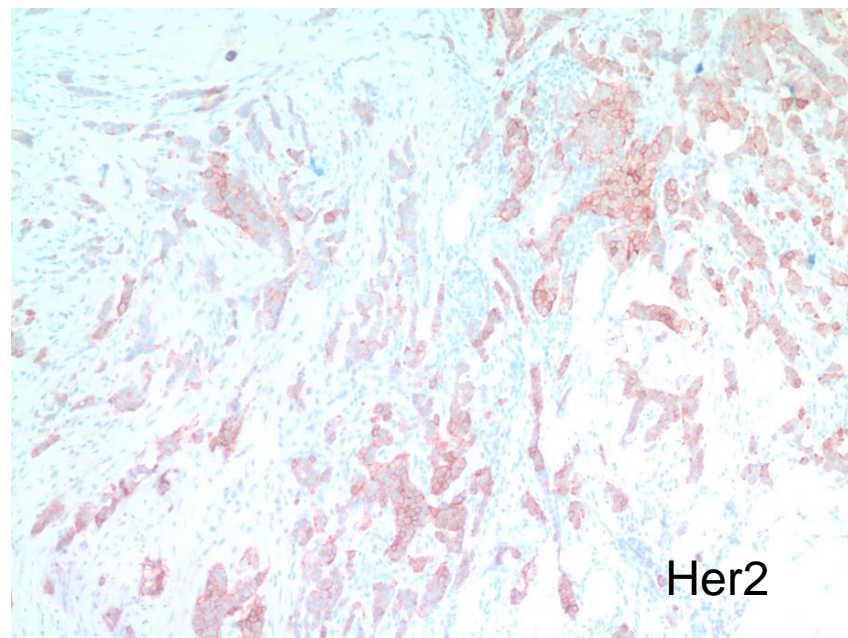
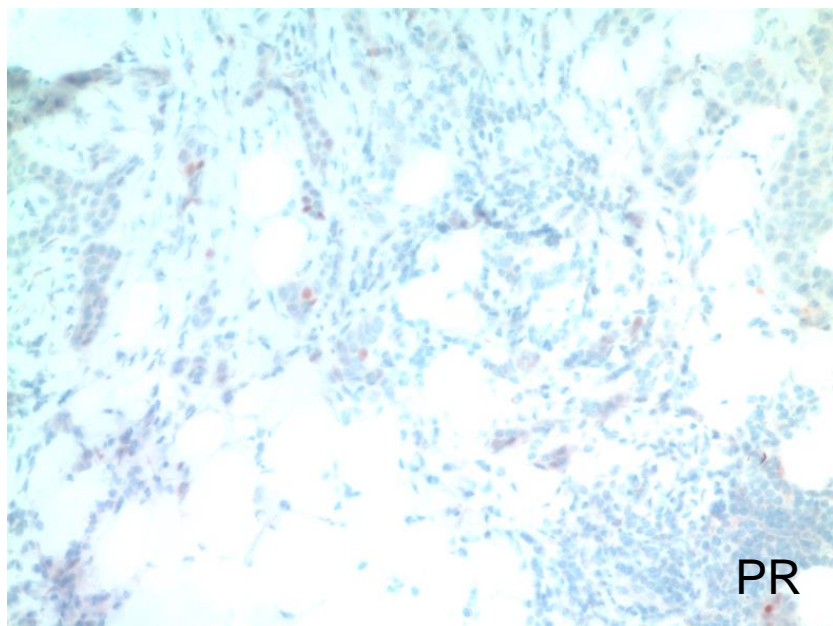
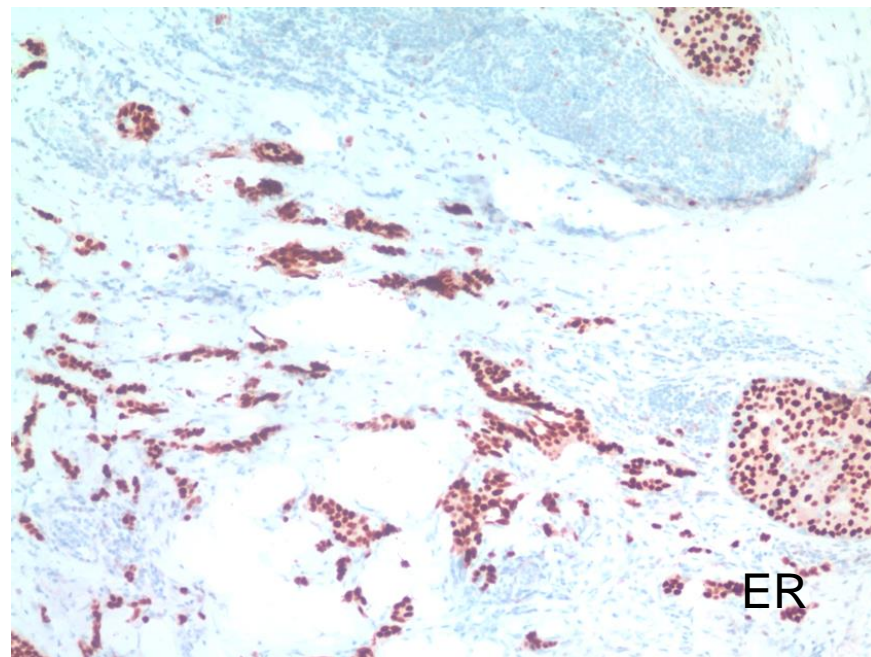
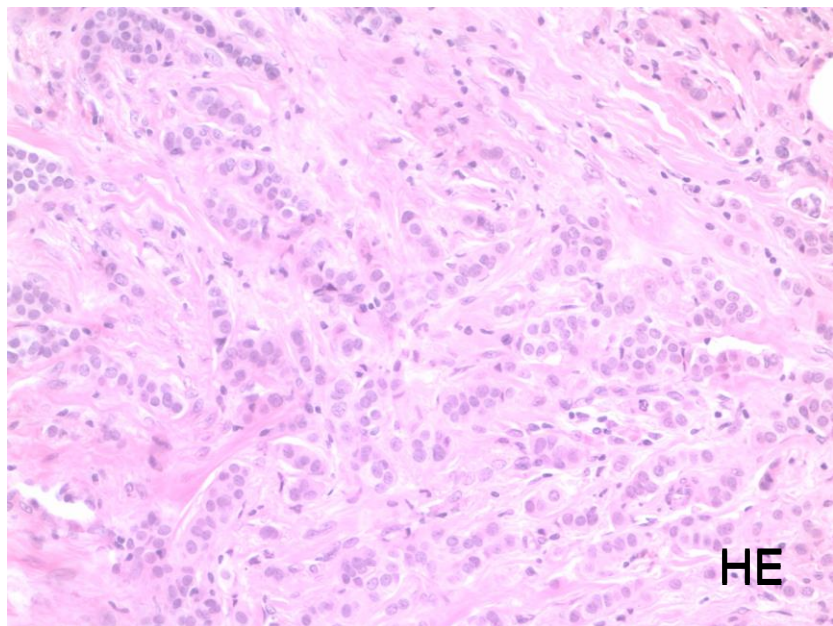


Emlő carcinoma

- **Her2 – amplifikáció IHC, FISH**
 - Trastuzumab terápia
 - **Egyéb IHC**
 - ER
 - PR
 - Ki-67 : prognózis
- } **Hormon terápia**



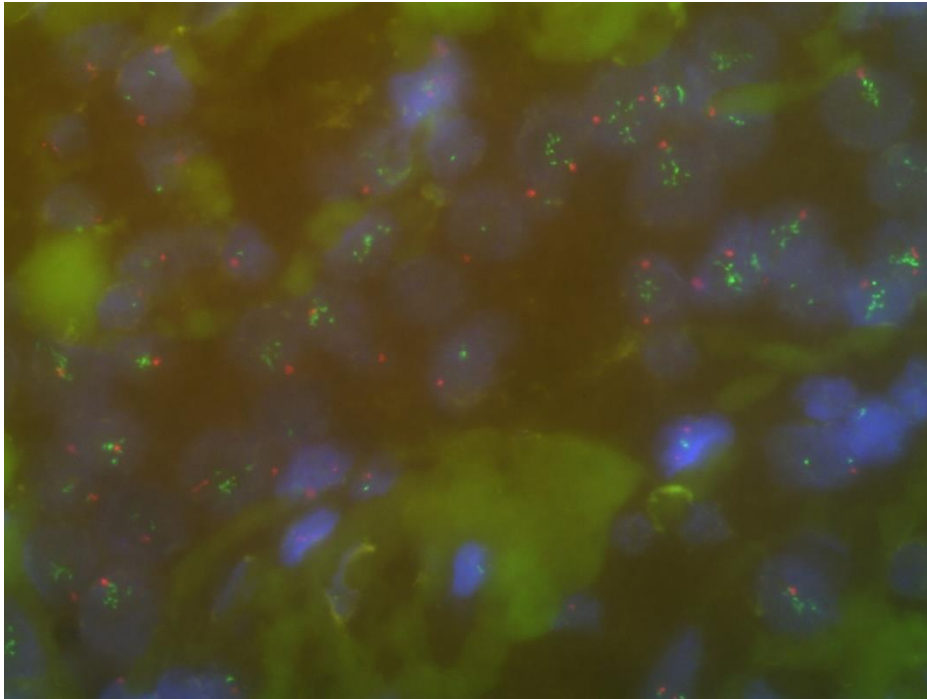
Jól differenciált, hormon pozitív emlő carcinoma bizonyítalan Her2 expresszióval



Her2- FISH amplifikált

Eredeti szövettani szám: OOI, 7434/15

Eredeti diagnózis: jobb emlő BFQ, invazív ductalis carcinoma, Her2: 2+



Vizsgálati módszerek:

Her2 immunhisztokémiai reakció: 4B5 ellenes antitest (Ventana, Pathway), külső 3+ pozitív és 0, negatív kontrollal.

Fluoreszcens in situ hibridizáció: ZytoLight, Spec HER2/CEN 17 Dual Color Probe Kit-tel végzett molekuláris vizsgálat belső negatív kontrollal.

Fotódokumentáció száma: emlő FISH: 186-15

Eredmények:

Her2 immunhisztokémia: 2+

FISH: 50 invazív tumorsejt vizsgálata alapján: ismétlést követően: amplifikált

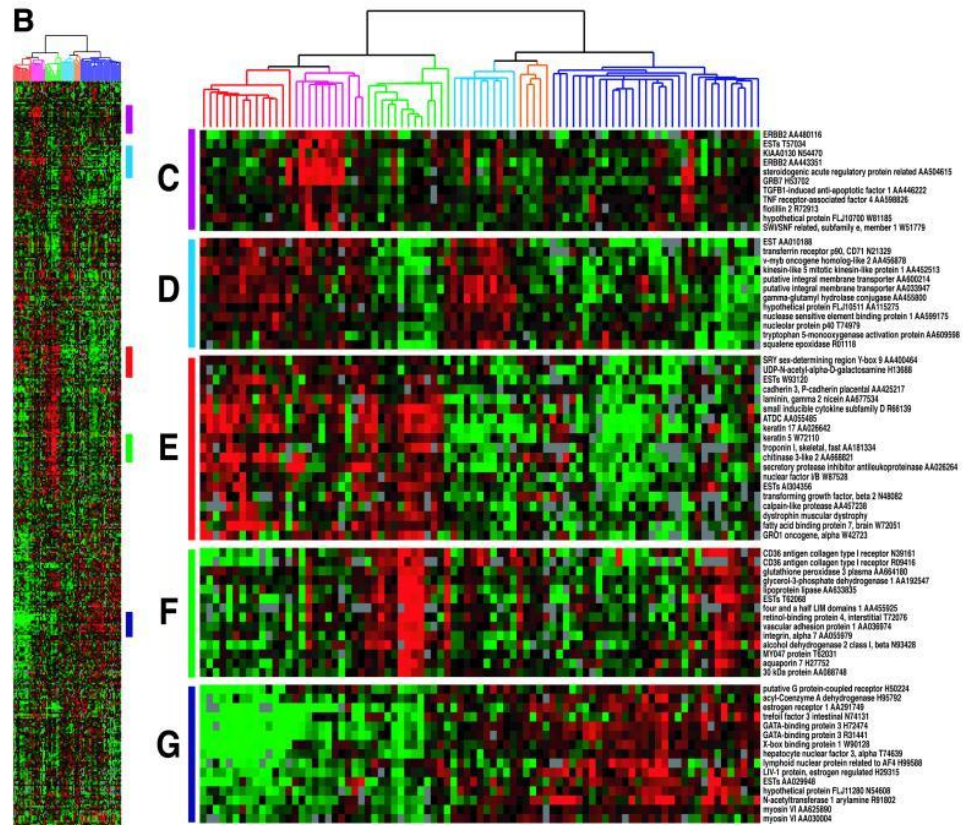
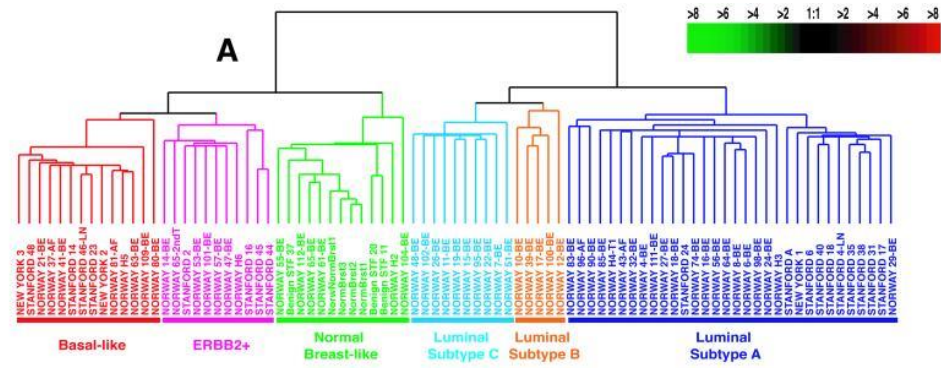
abs Her2 gén kópia szám: 10,5

abs Cen17 gén kópia szám: 0,9

Her2/Cen17 ratio: 11,6

Diagnózis: A daganat immunhisztokémiai vizsgálattal Her2: 2+; overexpresszió bizonytalan, ismételt FISH vizsgálattal gén amplifikáció jelen van.

Emlő carcinoma molekuláris klasszifikáció



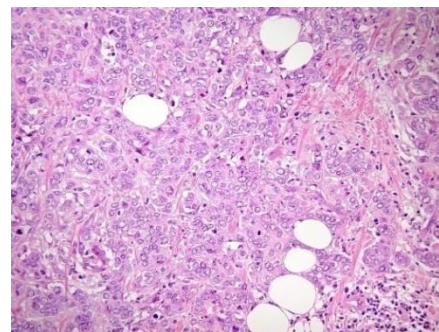
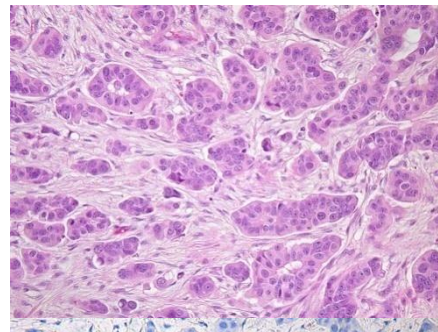
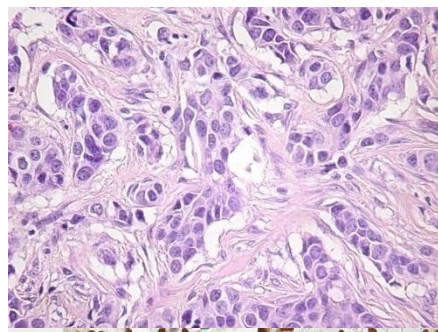
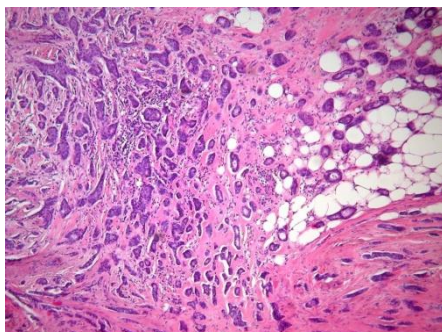
Molekuláris alcsoportok IHC

Luminális A

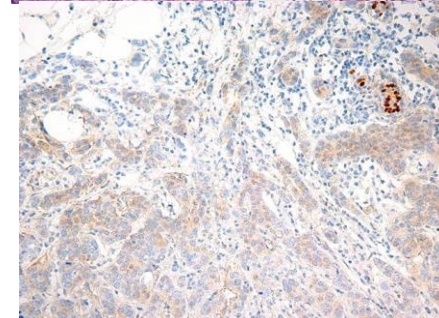
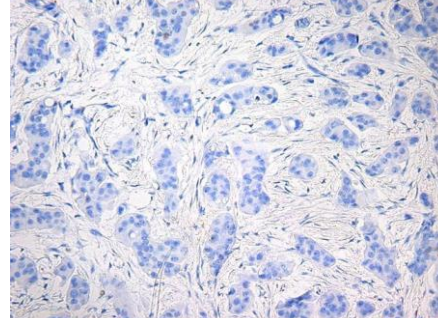
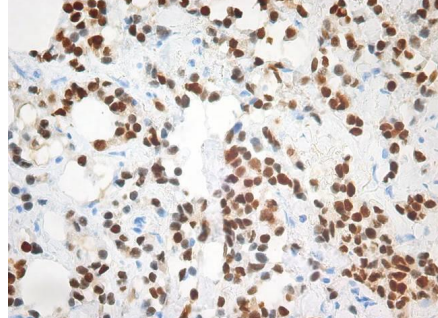
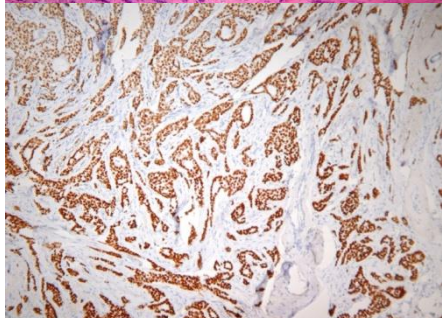
Luminális B

HER2

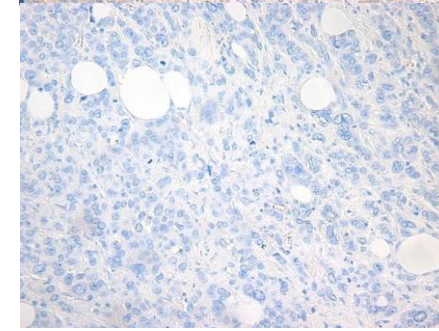
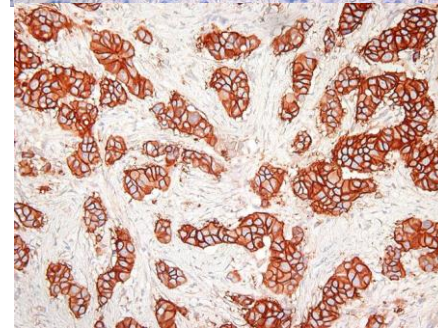
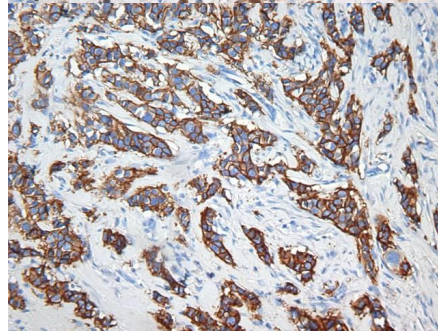
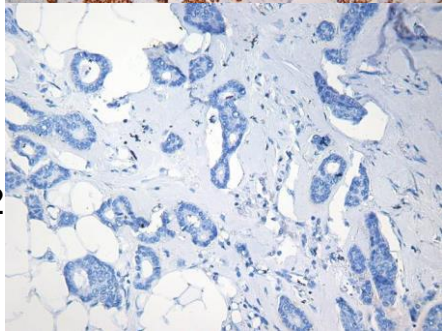
Bazális



ER



HER2



Ki67<

CK5 +
EGFR +

Molekuláris klasszifikáció és klinikopatológiai jellemzők

	Molekuláris alcsoport		
	Luminális	HER2	Bazális
Génexpresszió	<ul style="list-style-type: none"> – Hormonreceptor és kapcsolódó gének fokozott expressziója – Luminális A nagyobb mértékben, mint a B 	<ul style="list-style-type: none"> – HER2 és asszociált gének fokozott expressziója – ER és asszociált gének alacsony expressziója 	<ul style="list-style-type: none"> – Bazális epithelialis és citokeratin gének fokozott expressziója – Alacsony ER- és HER2-génexpresszió
Klinikai és patológiai jellegzetességek	<ul style="list-style-type: none"> – ~ 70%-a az invazív emlőrákoknak – ER+/PR+ – A luminális B típus hisztológiai grade-je magasabb lehet emelkedett proliferációval és HER2-overexpressziót mutathat 	<ul style="list-style-type: none"> – ~ 15%-a az invazív emlőrákoknak – ER-/PR- – Gyakran magas a hisztológia grade és gyakoribb a nyirokcsomóáttét 	<ul style="list-style-type: none"> – ~15%-a az invazív emlőrákoknak – „Tripla negatív”: ER-/PR-/HER2- – BRCA1-diszfunkció
Terápia és prognózis	<ul style="list-style-type: none"> – Endokrin terápiára jó válasz, de a luminális A és B típusok eltérő mértékben reagálhatnak – Kemoterápiára különböző mértékű válasz, a luminális B jobban reagálhat – Prognózis jobb a luminális A-ban 	<ul style="list-style-type: none"> – Trastuzumabra terápiás válasz – Antraciklinalapú kemoterápiára reagálnak – Általában rossz prognózis 	<ul style="list-style-type: none"> – Endokrin és trastuzumabterápia nem hatékony – Platinaalapú kemoterápiára és poli-ADP-ribóz-polimeráz-gátló kezelésre érzékenység – Általában rossz prognózis

Onco^{type} DX[®] 21-Gene Recurrence Score (RS) Assay

16 Cancer and 5 Reference Genes

PROLIFERATION

Ki-67
STK15
Survivin
Cyclin B1
MYBL2

ESTROGEN

ER
PR
Bcl2
SCUBE2

GSTM1

BAG1

CD68

REFERENCE

Beta-actin
GAPDH
RPLPO
GUS
TFRC

INVASION

Stromelysin 3
Cathepsin L2

HER2

GRB7
HER2

$$\begin{aligned}
 \text{RS} &= + 0.47 \times \text{HER2 Group Score} \\
 &= - 0.34 \times \text{ER Group Score} \\
 &+ 1.04 \times \text{Proliferation Group Score} \\
 &+ 0.10 \times \text{Invasion Group Score} \\
 &+ 0.05 \times \text{CD68} \\
 &- 0.08 \times \text{GSTM1} \\
 &- 0.07 \times \text{BAG1}
 \end{aligned}$$

Risk Category	Recurrence score
Low risk	RS <18
Int risk	RS ≥18 and <31
High risk	RS ≥31

Összefoglalás

- A **patológiai diagnosztika célja** a beteget kezelő orvosoknak **információt szolgáltatni** a daganatos betegségre vonatkozóan.
- A daganatok **prognózisát** és a **kezelés szükségességét**, a **modalitások megválasztását** és a **terápia várható hatékonyságát** alapvetően meghatározza a patológiai diagnózis.
- **A daganatok diagnózisa morfológiai alapú.**
- **A szolid tumorok prognózisának a leglényegesebb prognosztikai faktora a daganat stádiuma.**
- **A korszerű szövettani lelet egyéb prognosztikai és prediktív faktorokat is tartalmaz, kellően áttekinthető és strukturált formában.**
- A hagyományos szövettani/sebészeti patológiai diagnosztika mellett napjainkban **egyre lényegesebb szerepe van a molekuláris diagnosztikának**, nem csak a **daganatok diagnózisának felállításában**, hanem a célzott terápia előtérbe kerülésével a **terápiás célpontokat jelentő gén/fehérje elváltozások meghatározásában.**
- **A patológusok által összegyűjtött információt sokan használják fel** (beleértve az onkológusokat, rákregiszterrel foglalkozókat és rendszer tervezőket), **hogy a betegek túlélési eredményeit javítsák.**



MIROSLAV BARTÁK RAJZA