

Prediktív és prognosztikus faktorok szolid tumorokban - a molekuláris képződés és a patológiai ismeretek szerepe a terápiás válasz mérésében és annak előrejelzése során

Doktori értekezés

Dr. Tőkés Tímea

Semmelweis Egyetem
Patológiai Tudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Dank Magdolna, Ph.D., habilitált egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Hadjiev Janaki Stanislavov, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Molvarec Attila, Ph.D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Nyirády Péter, az MTA doktora, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Nikolényi Alíz, Ph.D., egyetemi tanársegéd
Dr. Czegle Ibolya, Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest
2015

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	2
RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	6
1. BEVEZETÉS	8
1.1. Az emlődaganatokról	8
1.1.1. Emlődaganatok alapvető szövettani jellemzői.....	9
1.1.2. Az emlődaganatok immunfenotípusa és molekuláris szubtypusai.....	10
1.1.2.1. Hormon receptorok.....	10
1.1.2.2. A Her2 receptor.....	11
1.1.2.3. Proliferációs státus, Ki-67 index.....	12
1.1.2.4. A sejtciklus markerei.....	12
1.1.2.5. Egyéb markerek.....	13
1.1.2.6. Az emlődaganatok immunfenotípusa és molekuláris szubtypusai.....	14
1.1.2.7. Metodikai kérdések.....	15
1.1.4. Klinikai jellemzők.....	16
1.1.5. Emlődaganatok terápiája: általános megfontolások.....	17
1.2. A Primer Szisztémás Terápia	19
1.2.1. Primer Szisztémás Terápia: elméleti alapok.....	19
1.2.2. PST a gyakorlatban: indikációk, a kezelési terv felállítása.....	19
1.2.3. A primer szisztémás terápia során alkalmazott készítmények.....	20
1.2.3.1. Kemoterápia.....	21
1.2.3.2. Célzott kezelés a HER2 jelátviteli útvonalon.....	22
1.2.3.3. Célzott kezelés: Hormonterápia.....	24
1.3. Az emlődaganatok képalkotó diagnosztikája és a terápiás válasz mérése a primer szisztémás terápia során	27
1.3.1. Röntgen mammográfia.....	27
1.3.2. Emlő ultrahang diagnosztika.....	28

1.3.3. Emlő-MRI.....	28
1.3.4. Nukleáris Medicina az emlődiagnosztikában: emlőszcintigráfia	29
1.3.5. Nukleáris Medicina az emlődiagnosztikában: a PET/CT képalkotás	30
1.3.5.1. Képalkotás pozitron sugárzó izotópokkal.....	30
1.3.5.2. PET radiofarmakonok az onkológiai diagnosztikában.....	31
1.3.5.3. A radiofarmakon felvétel kvantifikálása	34
1.3.5.3.1. Dinamikus leképezés.....	34
1.3.5.3.2. Statikus leképezés	35
1.3.5.5. FDG-PET/CT vizsgálatok az emlődaganatok diagnosztikájában.....	38
1.3.5.6. Terápiakövetés FDG-PET/CT-vel	40
1.3.5.7. Összefüggések az FDG-felvétel és az emlődaganatok klinikopatológiai tulajdonságai között	44
1.3.5.8. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok emlődaganatok esetében.....	46
1.3.6. A terápia válasz mérésére alkalmazható képalkotó score rendszerek	46
1.3.6.1. WHO és RECIST kritériumok.....	46
1.3.6.2. EORTC és PERCIST kritériumok	48
1.3.7. Hazai ajánlások.....	49
1.4. A PST-t követő lokoregionális ellátás és a patológiai remisszió értékelése.....	50
1.4.1. Lokoregionális kontroll a PST után	50
1.4.2. A műtéti hisztológia	51
1.4.2.1. A patológiai komplett remisszió	52
1.4.2.2. Válaszmérő score rendszerek.....	52
2. CÉLKITŰZÉSEK	54
2.1. Tumorprolifерáció, mint prediktív marker a PST során	54
2.2. FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében.....	54
2.3. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése	55
3. MÓDSZEREK.....	56

3.1. Tumorproliferáció, mint prediktív marker a PST során	56
3.1.1. Betegbeválasztás	56
3.1.2. Hisztopatológiai analízis	56
3.1.3. Immunhisztokémia.....	56
3.1.3.1. Vizuális analízis	57
3.1.3.2. Computer-asszisztált analízis.....	58
3.1.4. Sejtciklus markerek és a klinikopatológiai paraméterek összefüggései	59
3.1.5. Statisztikai analízis.....	60
3.2. FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében	62
3.2.1. Betegbeválasztás.....	62
3.2.2. Hisztopatológiai analízis	63
3.2.3. FDG-PET/CT képalkotás és válaszmérés	64
3.2.4. Ultrahang vizsgálatok.....	66
3.2.5. Statisztikai analízis.....	67
3.3. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése	68
3.3.1. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok emlődaganatos betegek esetében	68
3.3.2. Az FDG-PET/CT hatékonysága a korai tumorválasz mérésében.....	69
3.4. Etikai engedélyek	70
4. EREDMÉNYEK	71
4.1. Tumorproliferáció, mint prediktív marker a PST során	71
4.1.1. A computer-asszisztált analízis validálása	72
4.1.2. A computer-asszisztált és vizuális analízis különbségei.....	73
4.1.3. A pCR és non-pCR betegcsoport elkülönítése, optimális vágópontok analízise	75
4.1.4. Sejtciklus markerek és a klinikopatológiai paraméterek összefüggései	77
4.2. FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében	81
4.2.1. Válaszmérő score rendszerek alkalmazhatósága a PST során.....	81
4.2.2. Válaszmérés Her2 overexpressziót mutató daganatokban.....	85

4.2.3. Biológiai szubtypusok hatása a tumorválasz értékelésére	89
4.3. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése	93
4.3.1. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok emlődaganatos betegek esetében	93
4.3.2. Az FDG-PET/CT hatékonysága a korai tumorválasz mérésében.....	95
5. MEGBESZÉLÉS	98
5.1. Tumorprolifерáció, mint prediktív marker a PST során	98
5.2. FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében.....	104
5.2.1. Válaszmérő score rendszerek alkalmazhatósága a PST során.....	104
5.2.2. Válaszmérés Her2 overexpressziót mutató daganatokban	107
5.2.3. Biológiai szubtypusok hatása a tumorválasz értékelésére	109
5.3. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése	112
5.3.1. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok emlődaganatos betegek esetében	114
5.3.2. Az FDG-PET/CT hatékonysága a korai tumorválasz mérésében.....	116
6. KÖVETKEZTETÉSEK	116
6.1. Tumorprolifерáció, mint prediktív marker a PST során	116
6.2. FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében.....	116
6.3. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése	118
7. ÖSSZEFOGLALÁS	119
8. SUMMARY	120
9. IRODALOMJEGYZÉK.....	121
10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	147
10.1. A disszertációval összefüggő közlemények – eredeti közlemények	147
10.2. A disszertációval összefüggő közlemények – összefoglaló közlemények.....	147
10.3. A disszertációtól független közlemények	148
11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	149

Rövidítések Jegyzéke

A szövegben ismétlődő rövidítések *ABC* sorrendben:

ABD: axilláris blokk disszekció	FDA: U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administratio
ADC: diffúziós koefficiens („apparent diffusion coefficiens”)	FDG: ¹⁸ F-fluorodeoxiglükóz
ADCC: antitestdependens celluláris citotoxicitás	FDG-PET/CT: ¹⁸ F-fluoro-dezoxi-glükóz Pozitron Emissziós Tomográfia és Computer Tomográfia
AJCC: American Joint Comittee on Cancer	FISH: fluoreszcens in situ hibridizáció
ALR: axilláris nyirokcsomó régió	FNAB: vékonytű aspirációs biopszia
ASCO/CAP: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists	FOV: field-of-view
ATP: adenzin-5'-trifoszfát	G-CSF: granulocyta kolónia stimulátor faktor
BCS: emlőmegtartó műtét („breast conserving surgery”)	GLUT: glükóz transzporter protein
CA: Computer-asszisztált analízis	GnRH:
C _{glc} : keringő cukor mennyisége	Her2: humán epidermális növekedési faktor receptor 2
CEP17: 17-es kromoszóma centromerikus próba	HIF-1 α : hipoxia indukált faktor 1-alfa
CR: komplett remisszió	HR: hormon receptor
cRR: klinikai válasz arány	IDC: invasiv ductalis carcinoma
CT: komputer tomográfia	IDC/NOS (=IDC/NST): az emlő nem specifikus típusú duktális daganata
cTNM: klinikai TNM státus	IGF-1: inzulinszerű növekedési faktor 1
DCIS: ductalis carcinoma in situ	IHC: immunhisztokémia
DFS: disease free survival, betegségmentes túlélés	IL: ipsilaterális
DIN: ductalis intraepithelialis neoplasia	ILC: invasiv lobularis carcinoma
DNS: dezoxiribonukleinsav	Ki-67 LI: Ki-67 labeling index/ Ki-67 festődési index
DWI: diffúzió súlyozott képalkotás („diffusion weighted imaging”)	LC: lumped constant
EGFR: növekedési faktor receptor	LD: leghosszabb átmérő („long diameter”)
EORTC: European Organisation for Research and Treatment of Cancer	LoA: level of agreement
ER: ösztrogén receptor	MAPK: mitogén-aktivált protein kináz
EWBPSG: European Working Group In Breast Screening Pathology	MCM: minichromosome maintenance protein
EüM: Egészségügyi Minisztérium	MIBI: ^{99m} Tc-methoxy-isobutyl-isonitril
	MIP: maximum intensity projection

MISP: Microscopic Image Segmentation Profile	ROC: Receiver Operating Characteristics
MR _{Glu} : glükózfelhasználás metabolikus rátája	ROI: a vizsgálat tárgyát képező régió („region of interest”)
MRFDG: FDG metabolikus rátája	RTG: röntgen
MRD: minimális reziduális betegség	SAD: rövidebbik átmérő („short axis diameter”)
MRI: magnetic resonance imaging, mágneses rezonancia képalkotás	SD: stabil betegség
MTV: metabolikus tumor volumen	<i>SD</i> , a statisztikában: standard deviáció
NPV: negatív prediktív érték	SLNB: őrszem nyirokcsomó biopszia
NNL: nagy nagyítású látótér (=HPF)	SPECT: single photon emission tomography, egy foton emissziós tomográfia
non-pCR: pCR-t el nem ért	SUL: A SUV a zsírmentes testtömegre korrigálva (ahol L: lean body mass)
OEP: Országos Egészség Pénztár	SUV: Standardized Uptake Value
OS: overall survival, teljes túlélés	Δ SUV: SUV változása
OSEM: ordered subsets expectation maximalization	SUV _{avg} : SUV átlagos értéke (=SUV _{mean})
p95HER2: „trunkált” (lefejezett) Her2	SUV _{BSA} : SUV testfelületre korrigált értéke (BSA: testfelszín)
pCR: patológiai komplett remisszió	SUV _{max} : SUV maximális értéke
PD: progresszív betegség	SUV _{peak} : standard 1,2 cm-es VOI/ROI-ban mért maximális SUV
PEM: Pozitron Emissziós Mammográfia	TAC: szöveti aktivitás görbe
PERCIST: PET Response Criteria In Solid Tumors	TDM-1: trasztuzumab emtanzin
PET: Pozitron Emissziós Tomográfia	TLG: totál lézió glikolízis
PHH3: phosphohisztón-H3	TOF: time-of-flight
PI3K: foszfatidil-inozitol-3-kináz	UH: ultrahang
PR: progesteron receptor	UICC: International Union for Cancer Controll
<i>PR</i> : parciális remisszió	VA: Vizuális analízis
PPV: pozitív prediktív érték	VEGF: vaszkuláris endotheliális növekedési faktor
PR: partial remission, részleges tumorválasz	VOI: a vizsgálat tárgyát képező térfogat („volume of interest”)
PST: primer szisztémás terápia (=NAC)	WHO: World Health Organization
PT: primer tumor	ypTNM: PST utáni patológiai TNM
pTNM: patológiai TNM státus	
RECIST: Response Evaluation Criteria In Solid Tumors	
RFS: relapse free survival	
RNS: ribonukleinsav	

1. Bevezetés

Napjainkban a primer szisztémás terápia (PST) kiemelkedő szerepet kap az emlődaganatok kezelésében. Az onkológiai ellátás során, így a PST alatt is egyre nagyobb az igény a terápiás válasz monitorozására, a kezelés hatékonyságának korai értékelésére. Jelenleg nem ismert olyan biomarker, mely önmagában magas szenzitivitással jelezné előre a kedvező tumorválaszt. Célunk, hogy meghatározzuk azt az emlődaganatos betegcsoportot, akik biztosan profitálnak a PST alkalmazásából, a beteg számára lehető legkisebb megterhelést jelentő vizsgálatok segítségével, a lehető legrövidebb idő alatt. Prediktív markerek meghatározására az emlőpatológia és a képalkotás eszközeit használtuk fel.

Az emlődaganatok korszerű patológiai diagnosztikája - különböző sejtciklus-markerek expressziójának mérésével - új prediktív biomarkerek keresésére ad lehetőséget. Emellett egy újszerű módszer, a digitális patológia segítheti a patológusokat a mindennapi gyakorlatban, gyorsíthatja, egyszerűsítheti a diagnosztikát.

A modern diagnosztikus képalkotás is segíthet a PST hatékonyságát jelző biomarkerek keresésében. Az ^{18}F -fluoro-dezoxi-glükóz Pozitron Emissziós Tomográfia és Computer Tomográfia (FDG-PET/CT), mint hibrid képalkotó modalitás, a funkció és metabolizmus mellett az anatómiai lokalizációról is információt ad. A vizsgálat önmagában is informatív, de a patológiai lelet és a képalkotás eredménye együttesen kifejezettebb prediktív értékkel rendelkezik a kapott tumorválasz tekintetében. Azonban a válaszmérés pontos kritériumai még nem standardizáltak.

1.1 Az emlődaganatokról

A nemzetközi és hazai statisztikákban az emlődaganatok elsők között szerepelnek a daganatos incidencia és mortalitás tekintetében. A betegség incidenciája a legmagasabb a nők körében, összességében az emlőrák halálozás 5. a világon a daganatos halálokok között. A szűrővizsgálatok elterjedése és a korszerű terápiák bevezetése ellenére sincs látványos javulás a mortalitás terén. Nők között a daganatos halálozás tekintve az emlőrák a fejlődő országokban első helyen szerepel, míg a fejlett országokban – közvetlenül a tüdőrák után – a 2. helyen áll. Magyarországon az összes újonnan diagnosztizált rosszindulatú daganatos betegség több mint ötöde malignus emlődaganat (7781 fő 2013-ban), megelőzve a colorektális (4796 fő) és a tüdő carcinomákat (4569

fő). A daganatos mortalitás tekintetében a harmadik helyen áll (2167 fő), a tüdő (3173 fő) illetve a colorektális (2242 fő) daganatok után [1-3].

Az emlődaganat diagnózisának feltétele a szövettani mintavétel. A daganat verifikálása sajnos sok esetben még mindig csupán vékonytű aspirációs biopszia (FNAB) segítségével történik, noha a daganat biológiai viselkedésének részletes feltárására a vastagtűs core biopsziá követő hisztológiai diagnosztika ad lehetőséget. A patológiai diagnosztika és a korszerű képalkotó eljárások segítségével számos prediktív és prognosztikus markert határozhatunk meg, melyek a kezelési tervet alapvetően befolyásolják. Ilyenek pl. a szövettani típus, a grade, a társuló in situ komponens megléte, a lymphovaszkuláris invázió, valamint az immunfenotípus. A klinikai faktorok közül elsődleges a kezdeti tumor méret és a kiterjedés (cTNM stádium). [4]

1.1.1. Emlődaganatok alapvető szövettani jellemzői

A malignus emlődaganatok legalapvetőbb prognosztikai tényezője a *szövettani típus*. Az invazív emlődaganatok döntő többsége hám eredetű tumor, 60-75%-ban invazív ductalis carcinoma (IDC) azaz ún. „not otherwised specified” (NOS) vagy „nem speciális típus” (NST). A malignus daganatok 5-15%-a invazív lobularis carcinoma, mely gyakran kétoldali, multicentrikus daganat, jellemzően hormon receptor pozitív, a klasszikus típus mellett megjelenhet pleiomorph, pecsétgyűrűsejtes, apokrin stb. formákban is. Rossz prognózist jelent a mikropapilláris és a metaplasztikus tumor, valamint az igen agresszív mastitis carcinomatosa. A tubuláris daganatok döntő többségét hormon receptor pozitivitás jellemzi. Az emlő mesenchymális tumorai (pl. angiosarcoma, liposarcoma, leiomyosarcoma), a fibroepiteliális daganatok (pl. emlőhamartoma, Paget-kór) és az emlő malignus lymphomája ritka elváltozások. [4,5]

Az invazív malignus daganathoz társuló in situ komponens rossz prognosztikai marker. A leggyakoribb elváltozások a ductusok hámsejteiből indulnak ki (ductalis intraepitheliális neoplasia=DIN), az in situ elváltozások 90%-a ductalis carcinoma in situ (DCIS, azaz DIN grade 3). [4]

A *szövettani grade*, a daganatsejtek differenciáltsági foka, mely kifejezi a kiindulási szövethez való hasonlatosságot szintén prognosztikus jelentőségű. A Nottinghami vagy kombinált szövettani grade értékeli a daganat tubulusképzési hajlandóságát, a nukleáris pleomorfizmust (méret, alak, variabilitás, magvacskák száma), a mitózis-indexet (mitózisok száma/ 10 nagy nagyítású látótér), és a peritumorális nyirok-/érinváziót. Ezek alapján 3 csoport különböztethető meg: a grade 1, azaz jól differenciált

tumorok (3-5 pont), a grade 2, tehát közepesen differenciált (6-7 pont) és a grade 3, azaz rosszul differenciált (8-9 pont) daganatok. A grade 3 invazív duktális emlődaganat kifejezetten rossz prognózisú. [5]

1.1.2. Az emlődaganatok immunfenotípusa és molekuláris szubtípusai

Az emlődaganatok esetében a tumorsejtek felszínén elhelyezkedő receptorok összetétele illetve a tumor által expresszált, annak proliferációját illetve biológiai viselkedését jellemző protein markerek tekinthetőek a kezelési terv meghatározóinak.

1.1.2.1 Hormon receptorok

Az emlőmirigy ösztrogén és progeszteron hatása alatt fejlődik és funkcionál. A plazma/szövet ösztrogénarány pre- és posztmenopauzában igen eltérő, a posztmenopauzális magas ösztrogén szint növeli az emlőrák rizikóját. Mind az ösztradiol, mint az ösztron elektrofil metabolitjai képesek genotoxikus transzformációt elindítani. Az ösztrogén-receptor (ER) dimerizációja és aktivációja után a DNS-hez kötődve hormondependens transzkripciót idéz elő. ER-t az emlődaganatok 60-75%-a expresszált, aktivációja pozitív hatással van az emlőduktusok növekedésére. [6]

A progeszteron-receptor (PR) pozitívitas a daganatok kevesebb, kb. 35%-ában van jelen. A PR expresszióját az ösztrogén szabályozza, az ösztrogénfüggő PR szintézis és a tumornövekedés között szoros a kapcsolat: a PR expressziója biomarkere az ER funkciójának és az endokrin érzékenységnek. Alacsony PR expresszió esetén az ösztrogén-szignalizáció alternatív útvonalakon megy végbe, az endokrin terápia hatásossága romlik: a PR negativitás rossz prognosztikai marker. [6-8]

Az ER és PR expresszió meghatározása immunhisztokémiai módszerekkel történik. A festődés mértékét Allred-féle gyorspontozással értékeljük [9]. A részpontok összege adja meg az összpontszámot, lehetséges értékek: 0 ill. 2-8. Endokrin terápias hatás 3 vagy afeletti pontszám esetén várható. (1. táblázat)

1. táblázat. Allred gyorspontozási rendszer [7]

Reakció átlagos intenzitása	Pont	Pozitív sejtmagok aránya	Pont
negatív	0	nincs	0
enyhe	1	<1%	1
közepes	2	1-10%	2
erős	3	10-33%	3
		33-66%	4
		66%<	5

1.1.2.2. A Her2 receptor

A humán epidermális növekedési faktor receptor család (EGFR) 4 transzmembrán tirozin-kináz receptort foglal magába: a HER1 (epidermális növekedési faktor, EGFR), a HER2, a HER3 és a HER4 receptort. A HER2-n kívül az összes receptor rendelkezik természetes liganddal. A szignalizáció során a HER receptor család tagjai homo-és heterodimereket képeznek, ezek közül a HER2:HER3 heterodimer igen gyakori, és a dimerizáció stabil volta miatt rosszabb prognózisú. A dimerizálódott receptorok intracelluláris doménje beindítja a szignalizációs kaszkádot, mely a foszfatidil-inozitol-3-kináz (PI3K) és mitogén-aktivált protein kináz (MAPK) útvonalon keresztül fokozza a sejtproliferációt és gátolja az apoptózist. A HER2 onkogén amplifikációja növeli a sejt felszíni Her2 receptorok számát. A Her2 receptor az emlődaganatok 15-20%-ában overexpresszált, ezek az emlődaganatok sokkal agresszívabbak, korábban adnak viszcerális áttéteket, összességében a betegek prognózisa rosszabb. A trastuzumab terápia megjelenéséig ezen emlődaganatos betegek korai halálozása messze túlhaladta Her2 negatív társaikét [10,11].

A Her2-ellenes terápia feltétele az igazolt Her2 pozitívitas (2. táblázat). Emlőrák esetében a Her2 meghatározás első lépése az immunhisztokémiai (IHC) reakció. Célzott kezelés szempontjából pozitívnak tekinthetők a 3+ értékelésű esetek, és bizonytalanak a 2+ értékelésű esetek. Negatívnak kell tekinteni a 0 és 1+ értékelésű eseteket. A bizonytalan esetekben kiegészítő, fluoreszcens in situ hibridizációs (FISH) vizsgálat szükséges a HER2 pozitívitas, azaz a génamplifikáció verifikálására. Amennyiben ez utóbbi vizsgálat pozitív eredményt ad, úgy a Her2 ellenes terápia megkezdhető. [12-14]

2. táblázat. Her2 immunhisztokémiai vizsgálatok értékelése [14]

IHC	Definíció
3+ értékelés	Komplett erős membránfestődés a sejtek >30%-ában
2+ értékelés	Komplett közepes intenzitású membránfestődés a sejtek >10%-ában, illetve komplett erős membránfestődés a sejtek >10, de < 30%-ában
1+ értékelés	Komplett gyenge membránfestődés a sejtek >10%-ában
0 értékelés	<10%-ban észlelt pozitívitas, inkomplett festődés, festődés hiánya
FISH eredmény	Definíció
Pozitív teszt, génamplifikáció	>2,2 HER2/CEP17 arány vagy átlagosan >6 HER2 gén kópiaszám sejtmagonként belső kontrollal (CEP17:17-es kromoszóma centromerikus próba) nem rendelkező teszteknel
Bizonytalan	1,8-2,2 közötti HER2/CEP17 arány vagy 4-6 közötti átlagos kópiaszám sejtmagonként belső kontrollal nem rendelkező tesztek esetén
Negatív	<1,8 HER2/CEP17 arány vagy <4 HER2 gén kópiaszám belső kontrollal nem rendelkező teszteknel

1.1.2.3. Proliferációs státus, Ki-67 index

A sejtnövekedés, proliferáció és apoptózis diszregulációja a daganatok kialakulásának kulcstényezője. A sejtciklus szabályozásában bekövetkező hibák, a növekedési faktor jelátviteli útvonalak serkentése az osztódási potenciált fokozza. A daganatban aktívan proliferáló sejtek aránya prognosztikai értékkel bír, melyet a sejtciklus G1-S-G2-M fázisainak markereinek kimutatásával számszerűsíthetünk. A mindennapi gyakorlatban a Ki-67 expressziójának immunhisztokémiai kimutatása terjedt el. A Ki-67 az MKI67 gén terméke, funkciója nem tisztázott, valószínűleg a sejtek riboszómális RNS szintézisében szereplő magi protein. Nevét az identifikálásához használt monoklonális antitestről kapta. A Ki-67 osztódó sejtekben (a sejtciklus G₁, S, G₂, és M fázisaiban) fokozottan expresszálódik, míg nyugvó sejtekben (G₀) nem kimutatható. [15]

A Ki-67 antitesttel jelölhető (MIB-1, SP6 stb.). A metszet értékelése során 10 nagy nagyítású látótérben (NNL) összesen legalább 500, de célszerűen 1000 sejt festődését kell értékelni. Csak magi festődés tekintendő pozitívnak, azonban az intenzitás nem releváns (szemben a hormonreceptor pozitivitás értékelésével). A Ki-67 festődési index (Ki-67 LI) a pozitívan festődő sejtek százalékos arányaként adandó meg az összes értékelt invazív sejthez képest. [16]

A magas Ki-67 LI kedvezőtlen prognosztikus jelentőséggel bír, viszont pozitív prediktív faktor a lokálisan előrehaladott daganatok primer szisztémás terápiára adott válaszában [17-19]. Azonban nincs konszenzus a prognosztikus és prediktív vágópontok tekintetében, a klinikai gyakorlatban leggyakrabban a 14% (prognosztikus) illetve 20% (prediktív) vágópontok használatosak. Emellett a Ki-67 LI meghatározást nagy intra- és interobszerver variabilitás is jellemzi [16,17,20,21].

1.1.2.4. A sejtciklus markerei

Emlődaganatok esetében kevés tanulmány áll rendelkezésre a Ki-67 mellett egyéb sejtciklus markerek prognosztikai értékéről, s azok prediktív értéke a primer szisztémás terápiára adott választ tekintve nem tisztázott [22-24]. Emlődaganatokban a Ki-67 mellett leggyakrabban vizsgált markerek az ún. MCM-komplex (minichromosome maintenance protein 2-7), a Ciklin A, E és D1, a geminin, az Aurora A és B valamint a phosphohistone-H3 (H3S10ph ~ a továbbiakban PHH3) [19,22,25]. Ezek közül választottuk ki a legígéretesebb, prognosztikai szempontból releváns, vizsgálatunkban is

alkalmazott markereket (MCM2, Ciklin A és PHH3), melyeket a továbbiakban részletesebben áttekintünk. (3. táblázat)

3. táblázat Sejtciklus markerek expressziója a sejtciklus egyes fázisaiban [22,26]

Marker/Fázis	G1	S	G2	M
MCM2	+	+	+	+
Ki-67	+	+	+	+
Ciklin A	-	+	+	+
PHH3	-	-	-	+

A Ki-67-hez hasonlóan az ún. MCM-komplex a G0 fázis kivételével jelen van a sejt teljes ciklusában, sőt, magában az osztódásra elkötelezett sejtben is kimutatható. Az MCM-komplex jelenléte a sejtciklusba lépés feltétele, a pre-replikációs komplex részeként összegyűjti a DNS-polimerázokat, emellett helikázként is funkcionál [27-29]. Ezzel szemben a Ki-67 expressziója a G1-S fázisban nő meg, fő regulátora a Ciklin B/Ciklin-dependens kináz 2 komplex, mely a G2-M fázis ellenőrzésért felel. A Ki-67 protein G2-ben a kondenzálódó kromoszómákhoz rendeződik, és az anafázisig ott is marad [15]. A Ki-67-hez hasonlóan az MCM2 expresszió mértéke az emlődaganatok esetében bizonyítottan prognosztikus értékkel bír [23,27].

A sejtciklus egyes fázisaira specifikus markerekkel is rendelkezünk az emlődaganat diagnosztikájában. A ciklinek a sejtciklus szabályozásáért felelnek, a Ciklin A az S-fázis ellenőrzőpontjának fő regulátora, az S-fázis kezdetétől a G2/M átmenetig expresszálódik. A Ciklin A a DNS-repair szabályozásában is részt vesz (a ciklin-dependens kináz 2-höz kötve) [22,26,27]. Az MCM2-höz hasonlóan prognosztikai értékkel bír emlődaganatok esetében: a magasabb Ciklin A expresszió rosszabb prognózissal társul [30-33]. Az M-fázis önálló markere a PHH3, mely a kromatin kondenzációjáért felelős fehérjék egyike. A PHH3 expressziója specifikusan reprezentálja a mitotikus aktivitást és az M fázisba lépett sejtek arányát [34-36]. Jelentősebb prognosztikai értékkel bír, mint a hematoxilin-eozin metszeteken meghatározott mitózis-index [37].

1.1.2.5. Egyéb markerek

A TP53 tumorszuppresszor gén mutációja az emlődaganatok 30-50%-ban jelen van. A p53 a sejtciklus egyik legfontosabb szabályozója. Kiesésével csökken a sejtciklus

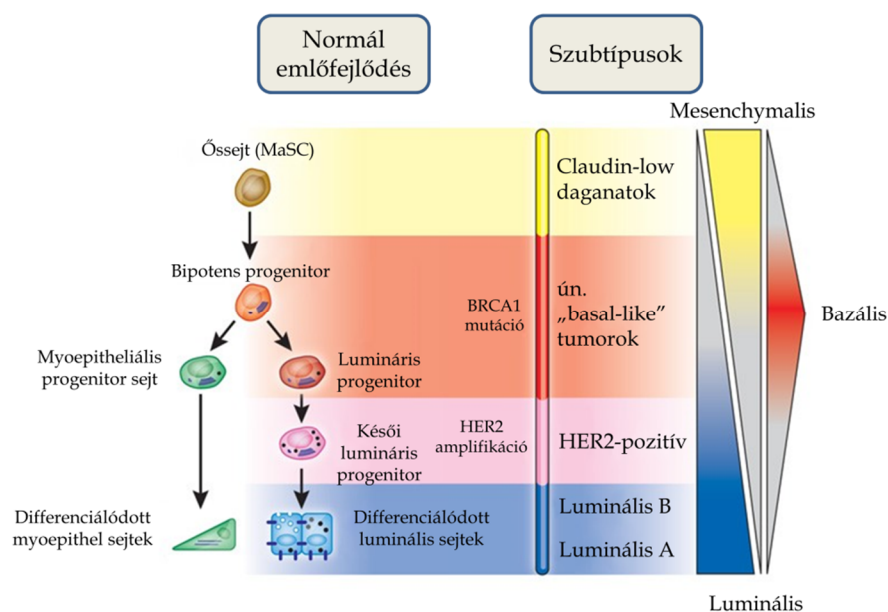
során létrejövő hibák javításáért felelős mechanizmusok aktiválódása illetve az apoptózis lehetősége, a sejtciklust a gátlás alól felszabadul, a sejt képes a keletkezett génhibával együtt osztódni, ezáltal növekszik a genom instabilitása [4,5].

Rossz prognosztikai marker a BRCA1/2 gének mutációja is, mely a daganatok 4-5%-ában mutatkozik (viszont az öröklődő daganatok esetén 45%-ban jelen van). [4,5]

Újabb prognosztikus markerek a sejt adhéziós és sejtkapcsoló struktúrák fehérjéi. Az E-cadherin mellett (mely a duktális és lobuláris emlődaganatok rutinszerű elkülönítésére használatos) a claudin család fehérjéinek kimutatása alapján meghatározott ún. „claudin-low” csoport a progenitor sejtekre jellemző génexpressziót mutat (ld. lent), s egy terápiarezisztens, rossz prognózisú daganatcsoportot jelöl. [38]

1.1.2.6. Az emlődaganatok immunfenotípusa és molekuláris szubtypusai

Perou és munkacsoportja az emlődaganatokat cDNS-microarray profil alapján altípusokra különítette el. A korlátozott hozzáférés miatt a gén expressziós array helyett a mindennapi gyakorlatban az immunhisztokémián alapuló klasszifikációt alkalmazzuk [39]. A kezelésükben eltérő, immunfenotípus szerint besorolt alcsoportok, noha nem fednek át teljes mértékben, de a mindennapi gyakorlat számára megközelíti a valódi molekuláris szubtypusokat [20,39,40]. A disszertáció készítésének évében megjelent új európai ajánlások is a terápia-orientált, leíró jellegű felosztást alkalmazzák az emlődaganatok szubtypusokba sorolásakor [41]. A molekuláris altípusok és immunfenotípusok párhuzamot mutatnak az emlő fejlődési szakaszaival (1. ábra) [42].



1. ábra. Molekuláris szubtypusok és az emlő epitheliális fejlődésének kapcsolata. (eredeti angol nyelvű ábra forrása: [42])

Tripla negativitás jellemzi (ER-, PR- és HER2-) az ún. claudin-low vagy mesenchymális daganatokat. A claudin-low csoport igen rossz prognózisú, a sejtek jellemzően mesenchymális és összejt asszociálta géneket expresszálnak, és nem mutatnak claudin-3,-4,-7 vagy E-cadherin expressziót. A bazális daganatok („basal-like”) ugyan expresszálják a luminális progenitor (kreatin 8/18) és bazális markereket (kreatin-5/6), de szintén tripla negatívak. Ezen tumorok primitív, nem differenciált sejtekre jellemző mintázatukkal szintén rossz prognózissal bírnak, köztük igen gyakori a BRCA1/2 mutáció is [42].

A HER2 gén amplifikációt mutató HER2-pozitív („HER2-enriched”) csoport a késői luminális progenitor sejtekhez hasonlatos fejlődési szakaszban lévő sejtekből épül fel, prognózisa a Her2 ellenes monoklonális antitestek és jelátvitel útvonal gátló tirozin-kináz inhibitorok bevezetése óta kedvezőbb. Az ER kifejeződés a luminális szubtypus sajátja, az endokrin terápia biomarkere. Azonban ez sem egységes csoport, a tumor proliferációs aktivitása és a párhuzamosan meglévő PR és Her2 receptor kifejeződés megléte szempontjából tovább osztható Luminális A, Luminális B/proliferatív és Luminális B/Her2-pozitív csoportokra (4. táblázat). Az alsó csoportok prognózisa a fenti sorrendet követi, a luminális A csoporté a legkedvezőbb. [20,42]

4. táblázat. Emlődaganatok immunfenotípusa a rutinszerűen meghatározott markerek expressziós mintázata alapján. [20]

SZUBTÍPUS	ER	PR*	Her2	Ki-67**
Luminális A	pozitív	magas	negatív	alacsony
Luminális B/ proliferatív (Her2-negatív)	pozitív	alacsony [†]	negatív	magas [†]
Luminális B/ Her2-pozitív	pozitív	bármely	pozitív	bármely
HER2-pozitív (non-luminal)	negatív	negatív	pozitív	bármely
Tripla negatív [‡]	negatív	negatív	negatív	bármely

* A cut-off érték PR esetén 20% (Prat et al. [8]) ** A vágópont az alacsony és a magas Ki-67 érték között laboratóriumonként eltérő, de 14% bizonyult a gén expressziós profil alapján megfelelő prognosztikus határértéknek. [†] A Luminális B/Her2-negatív szubtypusban ER-pozitivitás és Her2 negativitás mellett vagy alacsony PR expressziót vagy magas Ki-67 aktivitást mutató daganatokat sorolunk. [‡] A tripla negatív tumorok 80%-a ‘basal-like’ karakterű

1.1.2.7 Metodikai kérdések

Az immunfenotípus meghatározása tehát a tumor biológiai viselkedésére enged következtetni, az altípusok prediktív és prognosztika jelentősége szabja meg a terápiás tervet is [20,42]. A prognosztikus és prediktív biomarkerek gyors és pontos meghatározására egyre nagyobb az igény, így az IHC a rutin diagnosztika részévé vált. A megfelelő biomarkerek vizsgálatára az IHC egy relatív olcsó és kiterjedten használt

módszer, azonban a minták értékelése időigényes, az inter- és intraobszerver variabilitás egyes markerek esetén igen nagy [16,17,21].

A digitális patológia eszköztára itt nyújthat segítséget, a mindennapi gyakorlatban és a kutatásban egyaránt. A patológiai diagnosztika ma már nem csupán az IHC vizsgálatok végzése során alkalmaz automatizált rendszereket, de kutatások tárgyát képezik a digitális patológia módszerei és a computer-asszisztált kiértékelés bevezetése is. A digitális megközelítéssel nagyszámú minta objektivizált, pontos és reprodukálható értékelésére nyílik lehetőség, lényegesebb rövidebb idő alatt [43-47]. Mivel a strómális elemek és daganatsejtek optimális azonosítása jelenleg még nem automatizált, a gyakorlott patológus kihagyhatatlan az értékelésből, különösen a vizsgált célterület megválasztásakor [46].

1.1.4. Klinikai jellemzők

Az emlőt klinikai vizsgálata során kvadránsokra osztjuk, leggyakrabban a külső-felső kvadránsban fordul elő daganat (40%). A külső-alsó, a belső-felső és a belső-alsó kvadránsban ~10-10-10%, az emlőbimbó területén 2%, a centrális régióban további 18% a daganat előfordulása. A diffúz tumorok aránya 10%. A daganat ráterjedhet az emlő bőrére, narancshéjtünetet, kifekélyesedést, helyi oedemát okozva. A daganat kiterjedésének értékelésében fontos tényező a mellkasfal, a bordák, bodaközi izmok, musculus serratus anterior izomzat érintettsége. A mastitis carcinomatosa a legagresszívabb daganatok közé sorolható, klinikailag a bőr diffúz, izomtapintatú beszűrtsége, megvastagodása, erythemája jellemzi. Az emlőrák a nyirokutakon keresztül áttéteket adhat az axilláris, az arteria és vena mammaria interna menti, mediasztinális, infra- és szupraklavikuláris nyirokcsomók felé. [5,48]

A staging, vagyis a tumor kiterjedésének meghatározása igen fontos prognosztikai tényező. Emlőtumorok esetében a kiterjedés meghatározására az emlők rutin képalkotó vizsgálatán kívül a fent leírt regionális nyirokcsomó régiók valamint a távoli áttétek vizsgálatára alkalmas képalkotó diagnosztikai modalitások alkalmazása szükséges. A stádium-meghatározás legelterjedtebb módja az egységesített a 2009-es AJCC TNM rendszer használata (5. táblázat). [48] A TNM beosztás alapján elkészítendő a daganat stádium besorolása is. A Stádium 0 az in situ carcinomát jelöli, az IA és B, illetve a IIA és IIB stádium korai invazív daganatot jelenti, mely kizárólag az emlőt, illetve az axilláris régiót érinti. A IIIA, B illetve C stádium a lokoregionálisan előrehaladott, míg a IV stádium a metasztatikus emlődaganat. [48]

5. táblázat. A klinikai TNM klasszifikáció [48]. A T a primer tumor méretét, lokális kiterjedését, az N a regionális nyirokcsomó státuszt, az M a távoli áttétek jelenlétét mutatja.

T-stádium		N-stádium		M-stádium	
T0	tumor nem mutatható ki	N0	nincs regionális áttét	M0	nincs igazolt távoli áttét
Tis	carcinoma in situ	N1	mobilis ipsilaterális (IL) áttét		
T1	T1mi: ≤1 mm T1a: 1 < tumor ≤ 5 mm T1b: 5 < tumor ≤ 10 mm T1c: 10 < tumor ≤ 20 mm	N2	N2a: áttétek ipsilaterálisan, egymással/környezettel összekapaszkodnak N2b: klinikailag egyértelmű IL mammaria interna áttétek axilláris áttétek nélkül		
T2	20 < tumor ≤ 50 mm	N3	N3a: infraklavikuláris áttét axilláris beszűrődéssel vagy anélkül N3b: klinikailag egyértelmű IL mammaria interna áttét, klinikailag egyértelmű axilláris áttétekkel N3c: IL szupraklavikuláris áttét axilláris, mammaria interna áttéttel vagy anélkül	M1	klinikailag/ radiológiailag igazolt áttét
T3	50 mm ≤ tumor				
T4	bármely méret, ha: T4a: a daganat ráterjed a mellkasfalra T4b: narancshéjtünet/ kifekélyesedés/ oedemás bőr satellita T4c: T4a és T4b T4d: gyulladósos emlőrák				

1.1.5. Emlődaganatok terápiája: általános megfontolások

Általánosságban elmondható, hogy az I. stádiumba sorolható betegek esetében (T0/1 mellett N0/Nmi) a sebészi terápia az első választandó kezelés, lehetőség szerint emlőmegtartó műtét (BCS) formájában. Amennyiben ez ellenjavallt, ablációt és sentinel nyirokcsomó biopciát (SLNB) végeznek. A műtét után, szükség esetén, a tumor hisztológiai tulajdonságai alapján választott adjuváns terápia következik.

A II. stádiumú daganatok esetén (T1-2/N1 vagy T2-3/N0) a TNM függvényében választott sebészi ellátás után (BCS vagy mastectomia, SLNB vagy axilláris blokkdiszekció (ABD) végzése mellett) adjuváns radioterápia a lokális kontroll eszköze. A nyirokcsomó pozitív tumorok esetén adjuváns szisztémás terápia jön szóba. 2 cm-es tumorméret és/vagy nyirokcsomó pozitivitás esetén a primer szisztémás terápia előzi meg a műtétet.

A III. stádiumú betegek esetében (T0-3/N2, T3N1 vagy T4/N0-1) az első választandó kezelés a primer szisztémás terápia (kemo-, célzott biológiai vagy hormon terápia) és a végleges műtéti szövettani stádiumtól függően adjuváns kezelés alkalmazandó.

A IV. stádiumú, metasztatikus emlődaganatok esetében (bármely T és N mellett M1) a sebészi terápiának csak palliatív szerepe lehet (pl. higiénés abláció), elsősorban

szisztémás terápia alkalmazandó. Kockázat besorolás alapján szóba jöhet hormonterápia (endokrin receptor pozitív, Her2 negatív tumor csontáttétellel, hosszú betegségmentesség után jelentkező progresszi esetén) vagy kemoterápia (hormonreceptor negatív daganat szimptomatikus viszcerális áttétellel), Her2-pozitivitás esetén trastuzumabbal vagy egyéb, Her2 ellenes terápiával - lapatinib, pertuzumab, trastuzumab-emtanzin (TDM-1) - kiegészítve. A palliatív sugárterápia illetve a szupportív terápiák indikációs köre és részletes leírása jelen dolgozat kereteit meghaladja. [1,5,6,20]

1.2 A Primer Szisztémás Terápia

1.2.1. Primer Szisztémás Terápia: elméleti alapok

Az utóbbi 20 évben a primer szisztémás terápia (PST, az angolszász szakirodalomban NAC/NAKT, azaz neoadjuváns kemoterápia) egyre nagyobb teret nyert a lokálisan előrehaladott, de távoli metasztázist nem adó malignus emlődaganatok kezelésében, mint első választott terápia. A PST eredeti indikációja a rezekabilitás elérése volt, melyet a tumor kiterjedésének kemoterápia általi csökkentésével értek el, valamint mastitis carcinomatosa esetében tartották megfelelő kezdő lépésnek [49-51].

Az 1990-es évektől kezdődően a PST indikációs köre kibővült, a daganatok biológiai viselkedésének vizsgálata során szerzett új tapasztalatok alapján [52,53]. A neoadjuváns terápia alkalmazása, különösen, ha komplett patológiai remisszió (pCR) lépett fel, meghosszabbította a betegségmentes periódust (DFS) és teljes túlélést (OS) (feltéve, hogy a PST-t követően kuratív sebészi ellátásra is sor került) [50,54,55]. A szisztémás hatás tekintetében a PST, majd az azt követő műtéti ellátás egyenértékűnek, esetekben kedvezőbbnek is bizonyult a műtétet követő adjuváns kezelésnél [51,56,57].

A patológiai remisszió elérésével és/vagy a nyirokcsomókban lévő mikrometasztázisok eltűnésével a betegség alacsonyabb stádiumba juttatható (ún. „down-staging”). A preoperatív kemoterápia képes sterilizálni a mikrometasztázisok által érintett területeket és megelőzi azok további növekedését a sebészi terápia után is, mely maga is stimulálhatja a mikrometasztázisok kialakulását. Emellett a PST alkalmazásával az emlőmegtartó műtétek (BCS) száma és lehetősége is nő, melyre egyre nagyobb az igény a betegek részéről. [51,52]

A PST előnyös a daganatsejtek kemoterápiás szer iránti érzékenységének vizsgálatában is, mivel direkt, *in vivo* információ nyerhető a tumorszövet reakciójáról az alkalmazott kezelésre [52]. Így a PST a klinikai gyógyszervizsgálatok esetén is egyre gyakrabban használt kezelési forma: az U.S. Food and Drug Administration (FDA) a PST során elért pCR-t köztes helyettesítő végpontként 2014-ben elfogadta [58].

1.2.2. PST a gyakorlatban: indikációk, a kezelési terv felállítása

A PST a multidiszciplináris megközelítés iskolapéldája, indikációját az onkoteam (multidiszciplináris szakorvosi csoport, az angolszász irodalomban „tumor board”-ként található meg) határozza meg: a sikeres kezelés feltétele a klinikai onkológus, a patológus, az adott daganat ellátásában gyakorlott sebész, a radiológus és nukleáris

medicina szakorvos, a sugárterapeuta valamint az onkopszichiáter/pszichológus vagy mentálhigiénés szakember szoros együttműködése, ezáltal a szisztémás és lokális terápiák időzítésének és összetételének optimalizálása. Az alkalmazott protokollt a tumor biológiai viselkedésének függvényében kell megválasztani. A PST lehet kemoterápia, kemoterápia és kombinált biológiai/célt terápia vagy hormonterápia.

Általánosságban elmondható, hogy bármely beteg esetében, akinél adjuváns kezelés szóba jön, a PST megfontolandó [51]. PST kiemelt indikációja a komplex emlődiagnosztika során detektált lokálisan előrehaladott betegség (primer tumor > 2 cm, és/vagy nyirokcsomó pozitivitás) valamint a mastitis carcinomatosa. A lokális kiterjedés tisztázásán kívül teljes test staging vizsgálat elvégzése is szükséges a pontos stádium meghatározáshoz és a távoli áttétek kizárásához. A PST további feltétele a core-biopsziás mintavétel a biológiai viselkedés tisztázására (az ER, PR, Her2 és Ki-67 index expressziójának IHC vizsgálatával). A pCR elérésének esélye nagyobb fiatal (<40 év) betegek high-grade, magas proliferációs aktivitással rendelkező duktális karakterű daganata esetén, mely kisebb, mint 2 cm. Szubtípus szerint a triple-negatív, illetve Her2-pozitív szubtípusokban valószínűbb a pCR. A pCR elérése szempontjából kedvezőtlen a 60 év feletti életkor és a 4 cm feletti tumorméret, a lobuláris szövettan, alacsony grade (G1), illetve alacsony Ki-67 LI, valamint a lúminális A szubtípus.[51]

A kezelés sikerességének fokmérője a klinikai valamint a patológiai válasz mértéke, a cél a teljes klinikai és patológiai komplett remisszió elérése. A klinikai válasz mérésére a minden ciklus során végzett fizikális vizsgálat, valamint a kezelés végén ismételt staging vizsgálat szolgál, mely segíti a műtéti ellátás megtervezését is. A PST individualizált, válaszadaptált kezelésre adhat lehetőséget, ennek feltétele a megfelelő modalitással végzett pontos restaging és korai válaszmérés (ld. 1.3 fejezet). Amennyiben a PST nem hozza meg a várt eredményt sor kerülhet terápiaváltásra, vagy a műtéti kezelés előrehozatalára is [59]. A PST komplettálása után a műtéti preparátum részletes szövettani feldolgozása kiemelkedő fontosságú. A patológiai válasz mértéke, az esetlegesen jelen lévő reziduális daganatban a regresszió mértéke, valamint a tumor biológiai viselkedése meghatározzák a további, adjuváns szisztémás és lokális kezelés megválasztását is [51].

1.2.3. A primer szisztémás terápia során alkalmazott készítmények

Amennyiben PST alkalmazása mellett döntünk, a megfelelő kezelés kiválasztása a daganat biológiai tulajdonságainak ismeretén, vagyis a core-biopsziás szövettani

mintavétel eredményén alapul. Az ismertett prediktív és prognosztikus markerek, valamint az 5 alapvető szubtípus más és más kezelési útvonalat jelölnek ki a klinikus számára, a kemoterápia, célzott biológiai és hormonterápia eltérő kombinációinak alkalmazásával [20,51,55,60].

1.2.3.1. Kemoterápia

1997-ben az NSABP B-18 vizsgálat hozta az első olyan eredményt, mely objektívizálta a PST egyenértékűségét az adjuváns kemoterápiával a túlélés vonatkozásában [56]. A PST során a citotoxikus készítmények szekvenciálisan és kombinációban is alkalmazhatóak, de ezen adagolási módok egy protokollon belül is változhatnak. A kezelés nem standardizált, az alkalmazható kombinációk hatékonyságának értékelésére több klinikai vizsgálat született, a legjelentősebbeket a 6. táblázatban mutatjuk be [51,52,55].

6. táblázat. A legjelentősebb klinikai vizsgálatok a neoadjuváns kemoterápia hatékonyságáról [51,61-63].

Vizsgálat	n	Protokoll	pCR arány	p-érték
Untch et al, 2002 AGO 631	631	2wEx3 → 2wTx3 vs. ETx4	18% vs. 10%	0,03
Heys et al, 2002 Aberdeen	162	CVAPx8 vs. CVAPx4 → Dx4	15% vs. 31%	0,06
Steger et al, 2004 ABCSG-14	288	EDx3 vs. EDx6	7.7% vs. 18.6%	0,0045
Gianni et al, 2005 ECTO 451	451	ATx4 → CMFx4	23%	na
Minekowitz et al, 2005 GeparDUO	913	ACx4 → Dx4 vs. 2wADx4	22% vs. 11%	<0,001
Evans et al, 2005 ACCOG	632	ACx6 vs. ADx6	24% vs. 21%	0,61
Green et al, 2005 MDACC	258	Tx4 → ACx4 vs. wTx12 → ACx4	13.7% vs. 28%	<0,01
Bear et al, 2006 NSABP B-27	2411	ACx4 vs. ACx4 → 4xD	14% vs. 26%	<0,001
Minekowitz et al, 2008 GeparTrio	331+ 1741	DACx2 → válasz értékelése: I: non-responder II: responder DACx4 DACx4 vs NXx4 vs DACx6	I: 5.3 vs. 6% II: 21 vs. 23.5%	p=0.008 p=0.27
Untch et al, 2011 PREPARE	733	Ex3 (dózis denz)-Tx3 (dózis denz)-3 CMF vs. ECx4-Tx4	20.4% vs. 14.6%	p=0.043

Rövidítések: AC, doxorubicin és cyclophosphamid; AT, doxorubicin és paclitaxel; CMF, cyclophosphamid, methotrexát, és 5-fluorouracil; CVAP, cyclophosphamid, vincristin, doxorubicin, és prednison; D docetaxel; E, epirubicin; T: paclitaxel; N: vinorelbin (Navelbin), X capecitabin (Xeloda). na: nincs adat

A PST protokollok alapját minden szubtípus esetén a kemoterápiás szer - legtöbbször az anthraciklin és/vagy taxán gyógyszer-csoport - képezi, tervezetten általában 6-8 ciklusban, 3 hetente, legalább 3 hónapig (min. 4 ciklus) alkalmazva (az ABCSG-14 vizsgálat bizonyította, hogy a 6 ciklus kezelés esetén a pCR arány kedvezőbb a csupán 3 kezeléshez képest) [51]. Bizonyos esetekben a dózis denz adagolás – kisebb dózisok gyakori alkalmazása, pl. hetente alkalmazott taxán protokollok – csökkenti a mellékhatásokat, és növeli a túlélést, megfelelő szupportáció mellett (ld. Green és munkacsoportjának vizsgálata, PREPARE vizsgálat stb) [55,61]. További lényeges megállapítás, hogy a korai válaszmérés során terápiás választ nem mutató betegeknél a terápiaváltás előnyös, már 2 ciklus után is, nem kereszt-rezisztens protokollra. Az új sémát kapók túlélése a GeparTrio vizsgálat esetén hasonló volt a primeren nem rezisztens betegek betegség-mentes túléléshez [62,63].

Összefoglalva, a kemoterápia a lokálisan előrehaladott emlődaganatok PST kezelésének alapja, minden szubtípus esetén, de kiemelendő, hogy a *tripla-negatív* daganatokban kizárólag a kemoterápiás kezelés áll rendelkezésre. Anthraciklin-, illetve taxán-alapú kombinációk részesítendőek előnyben, emellett az alkilálószer jelenléte a protokollban javíthatja a túlélést. Anthraciklin kombinációk (pl. AC/EC, FAC/FEC), taxánok (paclitaxel, docetaxel, kombinációban, vagy heti, dózis denz kezelés formájában), platinaszármazékok (ciszplatin, carboplatin) és a CMF protokoll egyaránt alkalmazhatóak [51,60].

1.2.3.2. Célzott kezelés a Her2 jelátviteli útvonalon

A *Her-2 pozitív* és a *Luminális B/Her2-pozitív szubtípusok* esetén korábban szintén a kemoterápia képezte a PST alapján, azonban 2013 óta Magyarországon is elérhetővé vált a Her2-overexpresszáló daganatokban a neoadjuváns célzott trastuzumab terápia. A trastuzumab hatásmechanizmusa összetett, gátolja a Her2 receptorok aktiválódását, így a sejtproliferáció csökken. A Her2 overexpresszió fokozza a (vaszkuláris endotheliális növekedési faktor) VEGF expresszióját: a receptor gátlásával magát az érújdonképződést is gátolhatjuk. A trastuzumab az ún. „trunkált” (lefejezett) Her2 receptor (p95HER2) képződését is akadályozza, a metallo-proteázok gátlásával. A p95HER2 a trastuzumab kötőhelyét elvesztett receptor: így jelenléte a Her2 ellenes terápiára rezisztens szignalizációt okozhat. A trastuzumab további fontos, csak a monoklonális antitestekre jellemző hatása az antitestdependens celluláris citotoxicitás

(ADCC) mechanizmusának serkentése: a daganatsejtre kötődött antitestet a szervezet saját immunkompetens sejtjei felismerik, s a daganatsejtet megtámadják.

A trastuzumabot először metasztatikus emlődaganatok kezelésében törzskönyvezték, taxánokkal kombinációban bizonyult a leghatékonyabbnak. A Her2-ellenes terápiának a progresszió bekövetkeztekor is folytatódnia kell, biztosítva a folyamatos Her2-gátlást. Áttétes esetek ún. elsővonalbeli ellátásában a trastuzumab mellett a dimerizáció-gátló monoklonális antitest pertuzumabnak, valamint a trastuzumab emtanzinnak (TDM-1) is helye van. A trastuzumab kezelés a korai emlőrákok adjuváns kezelésében (egy éves periódusban) szintén kiemelkedően, több mint 30%-al csökkentette a várható halálozási rizikót. [64-66]

A Her2-gátlás neoadjuváns alkalmazását több II–III. fázisú vizsgálat támogatta, igen jó patológiai komplett remissziós (pCR) ráták, valamint klinikailag komplett remissziót elért jelentős számú eset kapcsán (7. táblázat). A trastuzumab kezelést a metasztatikus és adjuváns kezelés során szerzett korábbi kedvező tapasztalatok alapján kemoterápiával kombinálva alkalmazták. A legfontosabb randomizált vizsgálat a NOAH volt, mely egyben a trastuzumab törzskönyvező vizsgálata a neoadjuváns indikációban. Gianni és munkatársai 2010-ben mutatták be igen kedvező eredményeiket: a primer tumorok pCR aránya a trastuzumab-karon jelentősen nagyobb volt a standard kemoterápiával szemben (43% vs. 23%), a teljes pCR (ypT0ypN0, azaz mind a primer tumor mind a nyirokcsomó régióban elért komplett remisszió) ráta 38% vs. 19% volt [67]. Kiemelendő azonban, hogy azon Her2-overexpressziót mutató daganatok esetén, ahol egyidejűleg hormon receptor pozitivitás is fennállt (Luminális B/Her2-pozitív szubtípus), a pCR arány kedvezőtlenebb [68,69].

A trastuzumab mellett vizsgálták az egyéb Her2 ellenes kezelések hatékonyságát a neoadjuváns protokollokban. Önmagában sem a kis molekulású, tirozinkináz gátló lapatinib [70] sem a Her2:Her3 dimerizáció gátló monoklonális antitest, a pertuzumab nem bizonyult hatékonyabbnak a trastuzumab terápiánál, azonban a kezelések kombinált alkalmazása, azaz a több támadáspontú Her2 jelátviteli útvonal gátlás kiemelkedő pCR arányt eredményezett [71-74].

Összefoglalva, az Európai Gyógyszerügynökség 2011-es alkalmazási irányelveiben a trastuzumab esetén a neoadjuváns terápia már szerepel, a 2 cm feletti tumorok és gyulladós emlődaganatok esetében, kemoterápiával kombinálva (taxán +/- platina), majd a kezelést adjuvánsan folytatva (összesen 1 évig). [75]

7. táblázat. Neoadjuváns trastuzumab kezeléssel szerzett klinikai tapasztalatok [61,68,76].

Vizsgálat	n	PST protokoll	pCR arány	p érték	pCR arány/ HR poz.	pCR arány/ HR neg.
Buzdar et al, 2005 MD Anderson	42	P → FEC75 P → FEC75 + 24 x wT	26% 65%	0.016	27.2% 61.5%	25% 70%
Gianni et al, 2010 NOAH	235	AP → P → CMF AP → P + T → CMF + T	19% 38%	0.001	17% 18%	22% 48%
Untch et al, 2012 TECHNO	226	EC → P + T	40.7%	-	-	-
Untch et al, 2010 GeparQUATTRO	445	EC → D + X EC → D + X + T	19.1% 41.3%	<0.05	-	-
Untch et al, 2012 GeparQUINTO	615	EC + T → D + T EC + L → D + L	44% 30%	0.04	-	-
Baselga et al, 2012 NeoALTTO	455	w P + T w P + L w P + T + L	28% 20% 47%	0.0007	22.7% 16.1% 41.6%	36.5% 33.7% 61.3%
Gianni et al, 2012 NeoSphere	417	D + T D + Pert D + Pert + T Pert + T	23% 17% 42% 12%	0.0141	20% 17.4% 26% 5.9%	36.8% 30% 63.2% 27.3%
Guarneri et al, 2012 CHER-LOB	121	P + T → FEC + T P + L → FEC + L P + T + L → FEC + T + L	25% 26.3% 46.7%	0.019	25% 22.7% 35.7%	26.6% 35.7% 56.2%
Robidoux et al, 2013 NSABP B-41	519	AC → wP + T AC → wP + L AC → wP + T + L	49.4% 47.4% 60.2%	0.056	46.7% 48% 55.6%	65.5% 60.6% 73%
Ismael et al, 2012 HannaH	596	D → FEC75 + T sc D → FEC75 + T iv	34.2% 39.2%	-	-	-

Rövidítések: A= doxorubicin; X=capecitabine; CMF =cyclophosphamide, methotrexate, 5-fluorouracil; D=docetaxel; E =pirubicin; FEC=5-fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide; L=lapatinib; P= paclitaxel; Pert=pertuzumab; T = trastuzumab

1.2.3.3. Célzott kezelés: Hormonterápia

A lúminális profilú, lokálisan előrehaladott daganatok primer szisztémás kemoterápiájának alapja szintén az anthraciklin-taxán alapú kombináció, hasonlóan az ilyen biológiai tulajdonságú emlőrákok adjuváns kezeléséhez. Az endokrin terápia ezekben az esetekben általában csak a műtét után kerül bevezetésre. Amennyiben

azonban ellenjavallt a PST részeként alkalmazott kemoterápia (idős kor, elesett állapot, súlyos kísérő betegségek vagy a beteg a kemoterápiát visszautasítja), vagy jellemző a tumor indolens viselkedése és nagymértékű endokrin érzékenysége, a PST kezelés jelenthet primer anti-hormon kezelést is [51].

A hormonterápiára több lehetőség kínálkozik. A terápia premenopauzában elsődlegesen a szelektív ösztrogénreceptor gátló tamoxifen és a GnRH (gonadotropin releasing hormon) analógok kombinációján alapul. A tamoxifen az emlőszövetben az ER-n keresztül csökkenti a növekedési és angiogén faktorok termelődését, míg a csont, endometrium és a máj szöveteiben a tamoxifen ösztrogénszerű hatásokkal rendelkezik (így nem okoz osteoporosist, de növeli az endometriumrák kockázatát). A GnRH analóg leuprorelin ER-pozitív daganatokban ugyanolyan hatásos, mint a sebészi ovárium abláció, de reverzibilis.

Az endokrinterápia másik sarokköve a szelektív aromatazgatatók alkalmazása, melyek gátolják a szöveti (ovárium, posztmenopauzában a zsírszövet) és daganatban jelen lévő lokális ösztrogénszintézist. A szteroid szerkezetű aromatazgatatók (pl. exemestan) irreverzibilisen kötődnek az enzim szubsztrátkötő helyéhez, míg a nem szteroid típusú enzimgátlók (pl. anastrozol, letrozol) reverzibilisen gátolják az aromataz enzimkomplexbe tartozó citokróm P450-et. Az aromatazgatatókat sikerrel alkalmazzák posztmenopauzális emlőrák adjuváns kezelésében, hatékonyságuk a tamoxifennel vetekszik, metasztatikus daganatokban pedig eredményesebbnek bizonyultak [6,77,78].

A legjelentősebb, 3 hónapot meghaladó endokrin PST-t alkalmazó klinikai vizsgálatokat a 8. táblázat tartalmazza [79,80]. Összegezve elmondható, hogy posztmenopauzában a neoadjuváns aromataz-gátló kezelés jól alkalmazható, de hatását lassabban fejti ki, mint a primer kemoterápiás kezelés. A letrozol és az anastrozol kezelés hatékonyabbnak bizonyult a tamoxifen terápiánál (P024 PROACT és STAGE vizsgálat), és az exemestan kezelésnél is (ACOG Z1031). A kezelés ideje legalább 4 hónap, de optimálisan 6-12 hónapig kell alkalmazni a kívánt terápiás válasz eléréséhez (ld. Dixon és Llombart-Cussac vizsgálatai). Premenopauzában jelenleg nem elérhető a primer hormonterápiás kezelés.

A primer hormonterápia indikációja posztmenopauzában diagnosztizált, low-grade, indolens viselkedésű, erősen hormon pozitív, tisztán lobuláris, tubuláris vagy mucinózus tumor, melyek jellemzően kevésbé reagálnak a primer szisztémás kemoterápiára. Ha a primer terápiát követően a műtéti kezelés megtörtént, a megkezdett

jó hatású endokrin terápiát továbbra is folytatni kell, összességében a műtét előtti kezelést is figyelembe véve, a klinikumtól függően 5-10 évig. [51]

8. táblázat. Neoadjuváns endokrin terápia emlőrákban – legfontosabb klinikai vizsgálatok és eredményeik [79-81]

Vizsgálat	n	PST protokoll	cRR arány	BCS arány
Eierman et al, 2001 P024	337	letrozol (16 hét)	55%	45%
		tamoxifen (16 hét)	36%	35%
Smith et al, 2005 IMPACT	330	anastrozol (12 hét)	37%	46%
		tamoxifen (12 hét)	36%	22%
		anastrozol+tamoxifen (12 hét)	39%	26%
Cataliotti et al, 2005 PROACT	451	anastrozol (12 hét)	39,5 %	11%
		tamoxifen (12 hét)	35,4%	17%
Semiglazov et al, 2007	121	doxorubicin-paclitaxel (12 hét)	63%	24%
		anastrozol (12 hét)	62%	32%
		exemestan (12 hét)	67%	33%
Krainick-Strobel et al, 2008	33	letrozol (4 hónap)	55.2%	-
		letrozol (8 hónap)	60%	75.9%
Olson et al, 2009	115	letrozol (4-6 hónap)	62%	50%
Generali et al, 2009	114	letrozol (6 hónap)	73.2%	-
		letrozol + metronomikus cyclophosphamid (6 hónap)	87.7%	-
Dixon et al, 2009	182	letrozol (12 hét)	69.8%	60
		letrozol (3-24 hónap)	83,5%	72%
Dixon et al, 2011	63	letrozol (12 hét), ILC	91%	81%
Ellis et al, 2011 ACOSOG Z1031	377	exemestan (18 hét)	62.9%	67.2%
		letrozol (18 hét)	74,8%	60.8%
		anastrozol (18 hét)	67,5%	77%
Llombart-Cussac et al, 2012	56	letrozol (4 hónap)	55%	-
		letrozol (4-12 hónap)	80%	43%
Masuda et al, 2012 STAGE	197	anastrozol + goserelin (6 hónap)	64.3%	85.7%
		tamoxifen + goserelin (6 hónap)	34.7%	67.6%

Rövidítések: cRR: klinikai válaszarány („clinical response rate”)

1.3 Az emlődaganatok képalkotó diagnosztikája és a terápiás válasz mérése a primer szisztémás terápia során

A PST kezelés sikerességét tükrözi a klinikai remisszió (fizikális és képalkotó vizsgálatokkal detektált), mely prediktív a prognosztikus jelentőségű patológiai válasz tekintetében. A diagnosztikus képalkotó vizsgálatokra támaszkodva az onkoteam dönt a PST folytatásáról, vagy progresszió esetén nem kereszt-rezisztens, egyéb kemoterápiára való váltásról. Hatástalan PST esetén, amennyiben van lehetőség klinikai vizsgálatra lépésre, a betegnek ezt meg kell ajánlani, mivel ennek hiányában csak a sebészi reszekció jön szóba, amennyiben az elváltozás műtétre alkalmas [59,82].

A PST alatt a klinikai válasz mérésére a minden ciklus során végzett fizikális vizsgálat kötelező, azonban igen szubjektív módszer. A fizikális vizsgálat gyakorlott vizsgáló kezében elfogadható pontosságú, de önmagában nem elegendő a terápiás válasz mérésére. Hátránya, hogy csak bizonyos mérethatár felett, főleg egygócú elváltozások esetén alkalmas a tumor detektálására [83]. A következőekben áttekintésre kerülnek a PST hatására bekövetkező tumorválasz monitorozásra gyakorlatban alkalmazható képalkotó modalitások, valamint ismertetjük a válaszmérés során alkalmazható osztályozási rendszereket. A lokális stagingre a triplet diagnosztika részeként végzett RTG- és UH-mammográfia mellett az emlő-MRI alkalmas. Újabb módszerek, mint a CT-lézer mammográfia, elasztográfia stb. a radiológiai szakma által nem elfogadott, rutinszerűen nem alkalmazott eljárások. A kezelést követő teljes test stagingben és a válaszmérésben a PET/CT kiemelkedő hatékonyságú, segíti a további terápiás lépések és a műtéti ellátás megtervezését is.

1.3.1. Röntgen mammográfia

A röntgen mammográfia igen nagy lineáris és kontrasztfelbontó képességű, lágy, kis fókuszú röntgensugárzást felhasználó eljárás. A korszerű röntgen mammográfia ma már digitális mammográfiát jelent. A digitális technika csökkentett sugárdózis mellett megkönnyíti a leletezést is, utólagos korrekciós eljárások és komputer-asszisztált diagnosztika alkalmazásával, így a diagnosztikus pontosság nő [84]. A mammográfiás képalkotás során a tumorméret pontos meghatározása igen nehéz alacsony lézió-alapszövet kontraszt esetén – azaz a denz, mirigyekben gazdag emlőszövetnél –, valamint szintén problémás a kiterjedés meghatározása gyulladással járó emlőtumoroknál. [83]. A kalcifikáció jelenléte megtervezést, még jó terápiás válasz esetén is perzisztálhat

a korábban kórjelző mikrokalcifikáció, a tumor nekrotikus reakciója során új calcifikációs mintázat jelenhet meg [85,86]. A fizikális vizsgálat, ultrahang, valamint mammográfiás képalkotás eredményessége között nem találtak szignifikáns különbséget a pCR megállapításában [87]. Összességében a mammográfia az esetek többségében nem alkalmazható biztonsággal a PST hatásának mérésére, igazi előnye a szűrés és utánkövetés tekintetében van.

1.3.2. Emlő ultrahang diagnosztika

Az emlő ultrahang (UH) diagnosztika az első lépés a röntgen mammográfiával felfedezett emlőelváltozások kivizsgálása során, a lokális stagingben kiemelkedő fontosságú. A szolid és cisztózus léziók elkülönítésében, denz emlő benignus és malignus elváltozásainak képalkotásában, illetve a vezérelt mintavételek elvégzésében első választandó modalitás. Elsőként alkalmazandó fiatal betegek (30-35 év alatt), terhesség, szoptatás idején fellépő emlőpanaszok, és gyulladásos emlőelváltozások kivizsgálásakor. A legfőbb előnye, hogy nincs ellenjavallata, valamint, hogy az axilla, a szupraklavikuláris terület mellett a mellkasfal vizsgálatára is kiválóan alkalmas. [83,84]

A válaszmérés során növeli a vizsgálat pontosságát, ha mind a kezelés előtti, mind pedig az azt követő mérést ugyanaz, az emlő képalkotásában jártas, gyakorlott vizsgáló végzi, ugyanazon a gépen. A vizsgálatot korlátozó tényezők lehetnek a tumorban a terápia hatására bekövetkező nekrotikus, illetve fibrotikus elváltozások, melyek hamisan a terápia rezisztencia látszatát kelthetik. A vizsgálat értékelése szintén pontatlan lehet, amennyiben a kezelés kezdetén az esetleges biopsziás vizsgálatok utáni hematomát, illetve tumorközeli ödémát a kezdeti tumorméret rögzítésekor nem veszik figyelembe, hiszen ezek későbbi felszívódása álpozitív tumorválaszra engedhet következtetni [83]. Az UH szenzitivitása kisebb a 6 mm alatti, illetve multifokális elváltozások esetén. Jól alkalmazható a bőrt infiltráló tumorok utánkövetésére [83,88]. A tapintható axilláris nyirokcsomók értékelése során szenzitivitása és specificitása magas [89]. A színes Doppler-UH vizsgálatok a tumor vaszkularitásának feltérképezésére alkalmazhatóak, melyekhez specifikus UH-kontrasztanyag is rendelkezésre áll. A vizsgálatnak magas a negatív prediktív értéke a pCR tekintetében [83].

1.3.3. Emlő-MRI

Az emlő-MRI egyre szélesebb körben hozzáférhető eljárás. Legfontosabb *indikációja* a multiplex, több gócu emlőelváltozások azonosítása, bilaterális, kiterjedt, mellkasfalat

involváló tumorok stagingje, a denz emlő kivizsgálása. Alkalmas operált/implantált emlők vizsgálatára, és fiatal, magas rizikójú (pl. BRCA1/2 klasszikus mutációt hordozók) betegcsoportok szűrésére. [83,84]

A terápiás válasz mérése során a lokoregionális restagingben és a sebészi ellátás tervezésében bírhat jelentőséggel. A PST után szenzitivitása 63-89% között változik, a triplet diagnosztikánál pontosabb [87,90]. MRI-vel talált multifokális elváltozás diagnosztikájában előforduló bizonytalanságok esetén az azt követő „second-look” UH diagnosztika 73%-ról 84,5%-ra növeli a tumorválasz pontos értékelésének arányát [91]. Az emlő-MRI a betegek 20%-ban változtathatja a PST-t követő, konvencionális képalkotás alapján megválasztott sebészi beavatkozáson [92].

A korai válasz mérésében főképp a speciális MRI szekvenciáknak lehet jelentősége. A komplett remissziót mutató betegek korai tumorméret csökkenése, valamint a korai abnormális kontraszthalmozás eltűnése jó prognózisra utal. MR-spektroszkópiával a PST során mért csökkenő vagy teljesen megszűnt kolin szint jó prediktora a terápiás válasznak [83]. A diffúzió súlyozott képalkotás extracelluláris tér vízmolekuláinak diffúziója alapján, az ún. diffúziós koefficiens (ADC) mérésével képes a sejtűs tumorszövet és az egészséges emlőszövet elkülönítésére [93], mind a staging [94], mind a PST monitorozása során [93,95]. Az ADC értéke tripla negatív tumorokban a legpontosabb a terápiára reagáló betegek azonosításában [96].

1.3.4. Nukleáris medicina az emlődiagnosztikában: emlőszcintigráfia

A nukleáris medicinában alkalmazott nyomjelzési technika alapja, hogy minimális, mindössze nano-/pikomoláris mennyiségben a beteg szervezetébe jutatott nyílt, radioaktív nyomjelző anyagok szerv-, szövet vagy funkció specifikus dúsulása a radioaktív bomlás detektálásával a vizsgáló számára vizualizálhatóvá válik (ún. tracer-elv, Hevesy György, 1943). A bejutatott radiofarmakon kis mennyisége miatt a kívánt szerv működésére nem hat, így segítségével a funkció farmakológiai behatástól mentesen térképezhető fel. A nukleáris medicina eszköztárából az emlődaganatok esetében két, alapjaiban eltérő eljárást alkalmaznak leggyakrabban: a technécium-99mTc-methoxy-isobutyl-isonitril (MIBI) radiofarmakkal végzett szcintigráfiát és a 18F-fluoro-dezoxi-glükózzal (FDG) végzett pozitron emissziós tomográfiát (PET). [97]

A MIBI szcintigráfia során a gammasugárzó 99mTc-izotóppal jelölt sestamibit a tumorsejtek felveszik, majd az a mitokondriumokban dúsul. A sestamibi szcintigráfia a miokardium viabilitás és a mellékpajzsmirigy vizsgálata mellett a fokális

emlőelváltozások karakterizálására (benignus emlőfolyamatok a MIBI-t nem dúsítják) és a malignus emlődaganatok lokoregionális stagingjére is alkalmazható. [97].

A sestamibi szcintigráfia vagy szcintimammográfia denz emlőszövet vizsgálatakor, illetve operált, hegszövetet is tartalmazó emlő esetén bizonyult a leghatékonyabbnak. Igen szenzitív modalitás továbbá a primer tumor PST-re adott válaszána megítélésében és különösen jól teljesít a pCR detektálásában [98]. A korai, egy-két ciklust követő válasz mérésében az eredmények ellentmondásosak [99,100]. A PST utáni emelkedett MIBI felvétel a tumor vaszkularitásának megőrzését, a terápia eredménytelenségét jelzi (ezekben a csoportokban rövidebb a betegségmentes és teljes túlélés is) [101]. Emellett a tumorok gyorsabb MIBI kimosódása összefüggést mutat azok P-glikoprotein expressziójával, így a radiofarmakon felvételének kinetikájából következtethetünk a tumor drogrezisztenciájára is [102].

1.3.5. Nukleáris medicina az emlődiagnosztikában: a PET/CT képalkotás

1.3.5.1 Képalkotás pozitron sugárzó izotópokkal

A pozitron emissziós tomográfia (PET) pozitron sugárzó radiofarmakonok felhasználásán alapuló funkcionális képalkotó eljárás. A képalkotás különlegessége a pozitronkibocsátással bomló izotópok bomlási tulajdonságaiban rejlik. Az intravénásan beadott radiofarmakon a jelölt molekula tulajdonságaitól függően, szerv-, szövet vagy funkcióspecifikusan halmozódik a szervezetben. A használt radioaktív izotóp bomlásakor pozitron-kibocsátás történik, majd a szövetekben megtett legfeljebb néhány tizedmilliméteres-milliméteres út (ún. „positron range”) végén a szöveti környezetben lelassult, elektronnal találkozó pozitron párt képez. A párképzést követően ún. annihilációs kölcsönhatás során két, egyenként ~511 KeV energiájú gamma foton emittálódik, az annihiláció helyétől megközelítőleg 180°-ban szétterve. A testet elhagyó gamma foton párt szcintillációs kristályokkal érzékeljük. A koincidencia-detektálás révén elektronikus kollimáció történik. A detektorgyűrűk egymás mellé helyezésével a látótér növelhető, az onkológiai képalkotásban legalább 15 cm axiális látóterű PET-kamerákat alkalmaznak, a leképezési idő teljestest felvétel esetében kb. 18-21 perc (6-7 ágypozíció). [103]

A képalkotás során az annihiláció helyét elhagyó gamma-foton interakcióba lép a környező szövetekkel, illetve magával a detektorral és az árnyékoló berendezésekkel is, ezek során gyengülés (attenuáció) lép fel. A lineáris attenuációs koefficiens a fotoelektromos hatás és Compton-szórás arányának, valamint a felezési

rétegvastagságnak a függvénye. Az attenuáció korrekciója elengedhetetlen a testen belüli radioaktivitás-koncentráció kvantitatív mérésének megvalósításához. Ez a leképezett terület szöveti elnyelésének feltérképezésével elvégezhető. A régebbi, önálló PET kamerákban ezt külső sugárforrás segítségével oldották meg, melyet a beteg körül forgattak. A korszerű hibrid PET/CT képalkotás során a gyengítés-korrekció a PET-el egy fekvésben végzett CT vizsgálat segítségével történik. A CT vizsgálat nem csupán az attenuáció-korrekció gyorsítható, de a radiofarmakon-akkumuláció anatómiai lokalizációját is nagyban segíti. Az adatgyűjtés kétdimenziós illetve háromdimenziós módban történhet. A kép-rekonstrukció a korszerű berendezések esetén már iteratív algoritmusokkal történik a hagyományos szűrt-visszavetítés helyett, ami a képek zajosságát nagymértékben csökkenti. Erre a leggyakrabban alkalmazott módszer az ún. „ordered subsets expectation maximalization” (OSEM). [103,104]

1.3.5.2. PET radiofarmakonok az onkológiai diagnosztikában

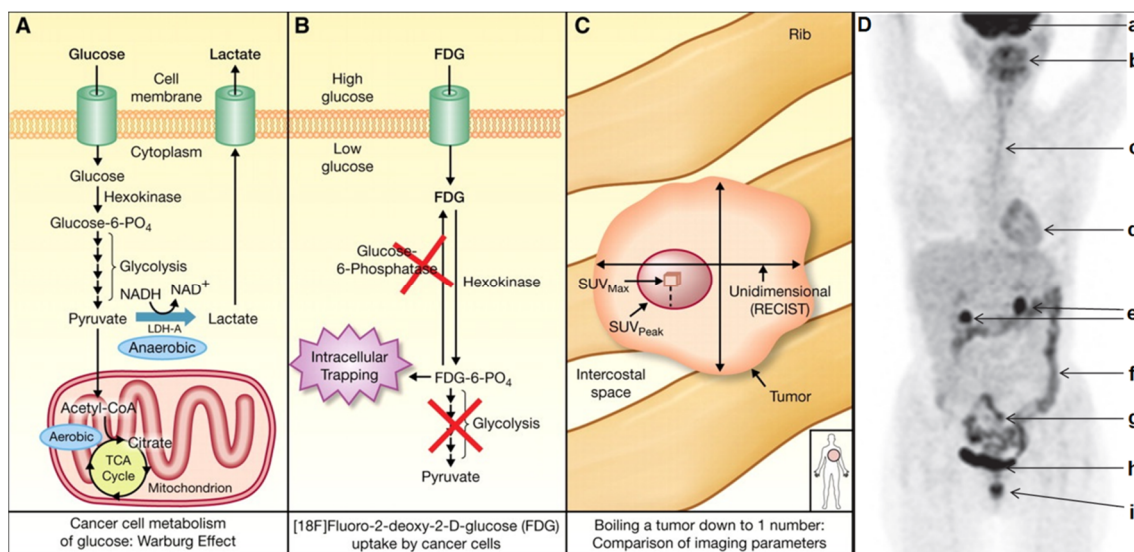
A pozitron sugárzó radiofarmakonok jelentőségét az adja, hogy az élő szervezet legfontosabb elemeinek vannak pozitronbomló izotópjai, így a ^{11}C , a ^{13}N és az ^{15}O , illetve a hidrogént helyettesítő ^{18}F által lehetővé válik a legalapvetőbb anyagcsere folyamatokban résztvevő molekulákat *in vivo* leképezni. Azonban a legtöbb izotóp felezési ideje igen rövid (ld. 9. táblázat), előállításuk igen költséges. [105]

9. táblázat. A leggyakrabban alkalmazott pozitron-sugárzó izotópok [105]

Izotóp	^{11}C	^{13}N	^{15}O	^{18}F
Felezési idő (perc)	20,3	9,98	2,05	110
Fajlagos radioaktivitás (Ci/mmol)	9×10^3	19×10^3	90×10^3	$1,7 \times 10^3$
Maximális pozitron energia (MeV)	0,97	1,20	1,74	0,64
Effektív dózisekvivalens 100 MBq jelzőanyagra (mSv)	0,4	0,25	0,1	2,5
Hatótávolság (mm)	4	5	8	2
Elérhető formái	^{11}CO , $^{11}\text{CO}_2$	^{13}N , $^{13}\text{NH}_3$	$^{15}\text{O}_2$, C^{15}O	H^{18}F , $^{18}\text{F}_2$
Kritikus szerv	máj	máj	tüdő	húgyhólyag

A PET képalkotás során leggyakrabban használt pozitron sugárzó izotóp a ^{18}F -fluor izotóp, mely kiválóan alkalmas a szénhidrát anyagcsere fő markerét, a glükózt helyettesítő glükóz analógok jelzésére, és felezési ideje nem túl rövid, 110 perc. A ^{18}F -fluorodeoxi-glükóz (FDG) radiofarmakont használó PET/CT nagy szenzitivitással jelzi a szövetek fokozott cukorfelvételét, a megnövekedett anyagcsere folyamatait.

Az FDG kivételes hatékonysága nagyban köszönhető a tumorsejtek megváltozott glükóz metabolizmusának (2. ábra).



2. ábra. A daganatos sejtek glükóz és FDG metabolizmusa.

(A) A daganatsejtek glükóz metabolizmusa során a piruvát az anaerob glikolízis útvonalat részesíti előnyben a citrát ciklus helyett (Warburg effektus). (B) Az FDG felvétele és akkumulációja daganatsejtekben: a hexokináz által foszforilált FDG-csapdáa esik. (C) Az FDG-akkumuláció szemikvantitatív és (D) vizuális megjelenése a PET képalkotás során. A (C) ábrán a képalkotás során rögzített SUV_{max} és SUV_{peak} (ld. 1.3.5.3.2 fejezet) paraméterek hipotetikus megjelenítése látható a morfolometriai mérés tükrében (RECIST kritériumok szerinti unidimenzionális átmérő rögzítése, ld. 1.3.6 fejezet). A (D) ábrán jelölt szervek fizioiógias körülmények között is fokozott FDG-felvételt mutatnak: (a) szürke állomány; (b) oropharynx – nyálmirigyek, a tonsillák, a nyelv és a hangszalag, valamint a musculus genioglossus és genihiyoideus; (c) oesophagealis FDG-felvétel; (d) a myocardium poszprandiálisan glükózt metabolizál; (e) vesemedence: az FDG a vizelettel ürül; (f) aspecifikus bélhalmozás pl. simaizom perisztaltika, bakteriális FDG-felvétel, valamint a Waldeyer-gyűrű, a Peyer plakkok és a coecum lymphoid szövetei; (g) vékonybél halmozás; (h) vizelet a húgyhólyagban és az (i) urethrában. (A, B és C ábra forrása: [106]; eredeti D ábra forrása: [107])

A glükóz fizioiógias körülmények között piruváttá alakul a glikolízis lépésein keresztül, hipoxiás körülmények között ebből laktát képződik. A daganatsejtek normoxia esetén is előnyben részesítik a laktát útvonalat, ahelyett, hogy a piruvátot az oxidatív foszforiláció folyamán adenzin-5'-trifoszfáttá (ATP) alakítanák mitokondriumaik segítségével (Warburg-effektus, Otto Warburg, 1931). A Warburg effektust számos jelátviteli útvonal segíti, különösen az onkogének, mint az AKT, mely stimulálja a glükóz transzportereket (GLUT 1-5), növeli azok kihelyeződését a membránba és serkenti a hexokináz enzim aktivitását, mely belépteti a glükózt a glikolízisbe (hasonlóan az inzulin és a hipoxia hatásához). A hipoxia indukált faktor (HIF) útvonal daganatokra jellemző overregulációja emellett felelős az anaerob glikolízis enzimeinek aktivációjáért és emeli a glükóz transzporterek expresszióját is. Mindezen mechanizmusok táplálják a daganatsejtet, és csökkentik az oxidatív stresszt

az oxidatív-foszforiláció lecsendesítésével. Így a daganatsejtek aerob körülmények között is fokozott glükózfelvételét FDG segítségével vizualizálhatjuk. [107,108].

Az FDG-t, a glükóz strukturális analógját a GLUT transzporter felveszi, majd a hexokináz enzim foszforilálja. A foszforilált FDG azonban már nem szubsztrátja a GLUT transzporternek, de nem vehet részt a további reakciókban sem, mivel a C-2 pozícióból a ^{18}F jelenléte miatt hiányzik az oxigénatom. A legtöbb tumorsejtekben a glükóz-6-foszfátáz enzim aktivitása csökkent vagy hiányzik, így a visszaalakulás FDG-vé extrém lassan megy csak végbe. Ezáltal az FDG csapdába esik a sejtben, pozitront emittálva bomlik, melyet az annihilációs kölcsönhatást követően a PET készülék detektál. [103,107]

A malignitásra gyanús FDG felvétel megfelelő értékeléséhez a radiofarmakon normál disztribúcióját ismerni kell (2. ábra/D) [107]. Az FDG felvétele nem tumorspecifikus, halmozódik egyszerű (pl. abscessusok, lágyrészek gyulladásos folyamatai) és speciális gyulladásos folyamatokban (pl. tbc, sarcoidosis, granulomatososok) egyaránt. Szöveti trauma is okozhat álpozitív eredményt (pl. friss műtéti heg, postbiopsziás állapot, haematoma, seroma), illetve a tumorterápia hatásai is megtévesztőek lehetnek (pl. sugárterápia utáni aktív fibrózis, vagy a kemoterápiát követő, fokozott csontvelői aktivitás). Fontos kiemelni tehát, hogy a kezelés után megfelelő időablakot (műtét vagy sugárterápia esetén 4-6 hét, kemoterápia, illetve szupportív citokinterápia esetén 2-3 hét után) betartva végezhetünk csak FDG-PET/CT vizsgálatot. Benignus elváltozások is járhatnak fokozott FDG felvétellel (pl. emlő esetén a ductalis adenoma, fibroadenoma, fibrosus dysplasia, vagy a laktációt kísérő mirigyhiperplázia). A PET/CT vizsgálat fals negatív lehet kis, 10 mm alatti tumorméret esetén, illetve alacsony metabolizmusú, jól differenciált tumor mellett. Egyes szövettani típusok, mint a mucinózus tumorok, szövettani összetételük miatt szintén gyengén halmozzák a radiofarmakont (ld. 1.3.5.7. fejezet). [107,109]

Tumorszövetek megnövekedett anyagcseréjét nem csupán FDG-vel képezhetjük le. A fokozott DNS szintézist pirimidin analógok (pl. ^{18}F -fluoro-dezoxi-L-timidin), a fokozott foszfolipid szintézist pl. ^{18}F -fluoro-etil-kolin, ill. ^{11}C -acetát felhasználásával, míg az aminosav anyagcsere fokozott aktivitását pl. ^{11}C -metioninnal vizsgálhatjuk. Kifejezetten emlőspecifikusak az ösztrogén (pl. a $16\text{-}\alpha\text{-}^{18}\text{F}$ -fluoro- $17\text{-}\beta$ -oestradiol) és a progeszteron anyagcsere leképezésére alkalmas jelzőanyagok (pl. $4\text{-}^{18}\text{F}$ -fluoro-propil-tanaproget), valamint a Her2 receptorhoz specifikusan kötődő ^{89}Zr -trasztuzumab. A fenti nyomjelző anyagok jelenleg kizárólag kutatási céllal alkalmazhatóak. [109]

1.3.5.3. A radiofarmakon felvétel kvantifikálása

A PET/CT diagnosztika értékelésére a legegyszerűbb módszer a kvalitatív értékelés, mely egyszerű vizuális analízissel történik. Azonban a PET/CT vizsgálatok legfőbb célja a radiofarmakon sorsának pontos követése az emberi szervezetben, a szövetek FDG-felvételének számszerűsítése, kvantifikálása. Erre több lehetőség kínálkozik.

Az arany standard az ún. dinamikus leképezés, mely a radiofarmakon beadásától kezdődő adatgyűjtést jelent, értékelése során matematikai modellek segítségével határozható meg egy adott szövetben a radiofarmakon halmozás-kinetikája az eltelt idő függvényében. Ez a módszer a szöveti eloszlás abszolút jellemzését teszi lehetővé, azonban csupán egy régiót, az axiális látóterbe eső területet (15-20 cm) képez le, így nem szolgáltat információt a radiofarmakon teljes testben mutatott eloszlásáról, valamint igen komplex értékelési módszert és szoftveres háttért igényel. [110]

A mindennapi gyakorlatban standardizált időintervallum után végezzük az adatgyűjtést (statikus PET/CT vizsgálatok). Az ún. statikus vizsgálatokat szemikvantitatív módszerekkel értékeljük: a szövetek aktivitáskoncentrációját a teljes szervezetben történő egyenletes eloszlás elméleti értékéhez viszonyítjuk az ún. standard felvételi érték (Standardized Uptake Value, azaz SUV) meghatározásával. [110]

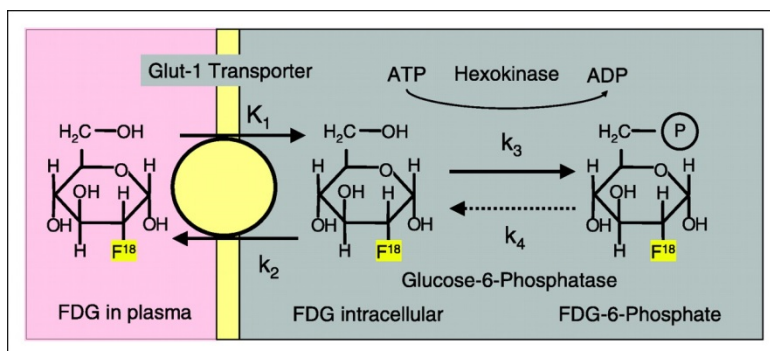
A továbbiakban e két értékelési módszer elméleti háttérét és gyakorlati alkalmazhatóságát tekintjük át emlődagatok esetében, mind a staging mind a terápiás válasz mérésének vonatkozásában.

1.3.5.3.1. Dinamikus vizsgálatok

A dinamikus FDG-PET/CT adatgyűjtés során a radiofarmakon intravénásan, a vizsgálóasztalon kerül beadásra, így a nulladik időpillanattól detektálható az FDG-eloszlása a szervezetben, a malignus elváltozás halmozás-dinamikája leképezhető. A mérés alapját az FDG eloszlásának kompartmentes modellje adja (3. ábra). A dinamikus adatgyűjtés során a radiofarmakon arányát vizsgáljuk a *plazma kompartmentben* (melyhez vagy reguláris artériás mintavételezést és direkt meghatározást végzünk, vagy a képalkotás során a bal kamrában mért aktivitás alapján kalkuláljuk a plazmaaktivitás) és a szöveti kompartmentben. A szöveti kompartment *csere-kompartmentből* (FDG-intracellulárisan) és *metabolikus kompartmentből* (FDG-6-foszfát alak) áll. [111]

A dinamikus képalkotás során meghatározható paraméterek az FDG influxot és effluxot leíró sebességi állandók. Ezek a K_1 , mely a GLUT-1 transzporter működésének sebességi állandója, azaz az FDG kapillárisokból (plazmakompartmentből) a sejtbe,

vagyis a cserekompartmentbe történő felvételét jellemzi. A k_2 az ezzel ellentétes effluxot írja le. A k_3 a hexokináz működését, azaz az FDG FDG-6-foszfáttá alakulását modellezi a metabolikus kompartmentben. A k_4 által jellemzett folyamat, azaz a glükóz-6-foszfát aktivitás elenyésző az FDG fiziológiás metabolizmusában. A K_i a teljes nettó FDG-influx aránya. [111,112]



3. ábra. Az FDG felvétel kétkompartmentes modellje [112]

Emellett, amennyiben ismerjük az adott szövet ún. „lumped constant”-át (LC) – mely az FDG és a glükóz közötti különbséget írja le a szöveti felvétel és transzport tekintetében egy specifikus szövetben vagy tumortípusban – és a beteg vércukorértékét, tehát a keringő cukor mennyiségét (C_{glc}), meghatározható az adott daganat metabolikus cukorfelhasználása (MR_{glc}) is. [111,112] A paraméterek közti összefüggést az alábbi egyenlettel írhatjuk le:

$$MR_{glc} = \frac{C_{glc}}{LC} \times \frac{K_1 k_3}{k_2 + k_3} = \frac{C_{glc}}{LC} \times K_i$$

A szöveti kompartmentben és a plazmában a radiofarmakon aktivitás-koncentrációját a szöveti aktivitás görbék (TAC) vizualizálják az idő függvényében. A dinamikus képalkotás jelentősége a terápiás effektus mérésében van, mivel több ágens közvetlenül - a hexokináz és a GLUT-1 expresszió csökkentésével – vagy közvetetten, a glikolízis szabályozási útvonalaira hatva lehetetleníti el a tumorok fő anyagszállító útjainak működését, melyre a sebességi állandók, azaz az FDG-influx és foszforiláció ütemének változásából következtethetünk. [112]

1.3.5.3.2. Statikus leképezés

Az FDG-PET/CT vizsgálatok rutinszerűen statikus leképezéssel történnek, az intravénás tracer beadást követően (~370-560 MBq azaz 10-15 mCi aktivitás) megközelítőleg 60 perccel, az ún. egyensúlyi állapot kialakulásának idején. A natív CT

vizsgálat után megtörténik a statikus leképezés. A vizsgálat során a páciens megközelítőleg 7-11 mSv sugárterhelés éri. A vizsgálat hossza 15-20 perc. [113]

A vizsgálatok értékelése vizuális illetve szemikvantitatív módszerekkel történik, a SUV vagyis a standard felvételi hányados segítségével, ami a sejtek FDG-felvételének kvantifikálására használt érték. A SUV a vizsgált régió azaz ROI („region of interest”) által kijelölt szövettömeg tényleges farmakontartalmát egy viszonyszámban fejezi ki a teljes testre feltételezett egyenletes megoszláshoz viszonyítva [104,114]:

$$SUV = \frac{\text{ROI aktivitás koncentráció } (t) \text{ (kBq/ml)}}{\text{beadott aktivitás } (t) \text{ (kBq) / testtömeg } (g)} \times \frac{\text{ml}}{\text{g}}$$

ahol a számlálóban a ROI aktivitás-koncentrációja a t időpillanatában (kBq/ml vagy MBq/kg), a nevezőben pedig a t pillanatban, időarányos bomlással korrigált beadott aktivitás (kBq vagy MBq) és a testtömeg hányadosa (kg) szerepel, feltételezve hogy a beteg térfogat denzitása 1 g/ml (így dimenzió nélküli mérőszámról van szó).[115]

A SUV előnye a terápia követés során mutatkozik meg legmarkánsabban, kiválóan összehasonlíthatóvá teszi a kiindulási és restaging vizsgálatokat. Azonban igen sok biológiai, technikai és fizikai faktor befolyásolja a mérést. Alapfeltétel a beteg testtömegek pontos rögzítése (mivel az változhat pl. a kezelés során, így befolyásolhatja a SUV értékét). Fontos figyelembe vennünk a zsírmentes és tényleges testtömeg közötti arányt is, ill. ennek kezelésre bekövetkező esetleges változását, mely esetben vagy a zsírmentes testtömege (SUL) vagy a testfelszínre (SUV_{BSA}) korrigált SUV alkalmazandó. A vércukor értéke szintén befolyásolja a SUV-ot: hiperglikémia esetén a SUV alacsonyabb, így emelkedett éhomi vércukor esetén a vizsgálatot halasztjuk. Az FDG fiziológiás izom- és barna zsírfelvételét fokozó tényezőket kerülni kell (pl. a képalkotást megelőző napokon megerőltető izommunka, a beteg hűvös vagy kellemetlen környezetben várakoztatása stb.). Különösen fontos a leképezés pontos időzítése a FDG intravénás beadásához képest (a normál szövetek az FDG-t gyorsabban képesek eliminálni, mint a malignus daganatok). A radiofarmakon eloszlásának dinamikája miatt a vizsgálatok standard, kb. 60 perces nyugalmi megoszlás után történnek. Ismételt vizsgálat esetén törekedni kell a minimális eltérésre a leképezési idők között. [110,116,117]

Fontos kiemelni, hogy a megfelelő kvantifikáláshoz a beadott aktivitás koncentráció nagyon pontos meghatározására van szükség, melyet ronthat pl. a fecskendőben maradt aktivitás, paravénás beadás stb. [110]. A detektálás során az adatgyűjtés és

képrekonstrukció (pl. az OSEM rekonstrukció során végzett iterációk száma, ún. „time-of-flight” (TOF) mérés alkalmazása, mátrix méret, szűrés és simítás, 2D/3D leképezés, a „field-of-view” (FOV) értéke stb.), valamint a kiértékelés módszerei (pl. a ROI típusa, mérete, helyzete) is befolyásolják a SUV értékét [110,116,118].

A különböző időpontokban végzett PET vizsgálatokon az FDG-felvétel változását SUV százalékos különbségével (Δ SUV) jellemezhetjük. A Δ SUV, amennyiben a testtömeg és a vesefunkció számottevően nem változott a kezelés hatására, alkalmas az FDG-felvétel változásának objektív értékelésére [104,116,117]:

$$\Delta\text{SUV} = 100 \times \frac{\text{kiindulási SUV} - \text{postterápiás SUV}}{\text{kiindulási SUV}}.$$

A SUV paraméterek közül a SUVmax a diagnosztikában legelterjedtebben használt és legegyszerűbben mérhető paraméter, a maximális SUV értéket jelenti az összes, adott ROI-ba foglalt voxel között. Ugyanakkor az OSEM rekonstrukció miatt a legnagyobb aktivitású pont zajértéke is a legnagyobb, így a SUVmax variabilitása magas, és általában túlbecsüli a relatív aktivitás koncentrációt a ROI-n belül. Az összes, ROI-ba foglalt voxel átlagos SUV értéke a SUVavg vagy SUVmean, mely paraméter a SUVmax jó alternatívája, azonban értéke nagyban függ a kontúr definiálásától. A SUVpeak/SULpeak paraméter megoldást adhat mindkét problémára. A SUVpeak mérése egy, a teljes tumort magában foglaló ROI-n belül a legaktívabb területre centrált standardizált, 1,2 cm átmérőjű ROI-ban történik (a 3D SUVpeak definiálása egy 1,2 cm átmérőjű 1 cm³ térfogatú gömb VOI-ban („volume of interest”) történik). Ez a pozíció biztosítja a maximális ROI átlagot, így a SUVmax zaj okozta hiányosságait pótolja, és a standard ROI a SUVavg eltérő ROI definiálás miatti hátrányait is kiküszöböli (ld. 2. ábra). [104,116,117]

A fent ismertetett mérőszámok mellett teljes tumor volumen metabolikus karakterizálására alkalmas paraméterek is megjelentek az irodalomban, ilyen a metabolikus tumor volumen (MTV). Azonban az MTV definiálása során a kontúrozásra során használt optimális SUV határérték kérdése vitatott. Néhány tanulmány alkalmazza az 50%-os határértéket [119], míg a legtöbb esetben egy abszolút SUV értéket használnak az MTV definiálásához [120], azaz a primer tumor kijelölése izokontúr VOI módszerrel történik, az MTV ekkor a 2,5-nél nagyobb SUV-ot mutató voxelek összege. A totál lézió glikolízis (TLG) az MTV és a SUVavg szorzata. [107,121].

A fentiek miatt az FDG szintézise, a betegek felkészítése a vizsgálatra, az FDG injektálása, a vizsgálat elvégzése és a detektálástól a leletezésig eltelt folyamat

szigorúan standardizált. A National Cancer Institute 2006-os ajánlásait [114] a European Association of Nuclear Medicine protokollja [104,110] és egy széleskörű, európai harmonizációs és minőségellenőrzési program követte [122]. Emellett a terápiás válasz standard mérésében szolid tumorok esetén a PET Evaluation Criteria in Solid Tumours (PERCIST) hozott előrelépést (ld. 1.3.6. fejezet) [117].

1.3.5.5. FDG-PET/CT vizsgálatok az emlődaganatok diagnosztikájában

Az FDG-PET/CT általánosságban magas szenzitivitással és specificitással jelzi a malignus daganatokat, azonban az emlőszövet esetében ezen túl szükséges, hogy a még nem tapintható, 1 cm alatti invazív, de esetenként még az in situ malignomákra is érzékeny legyen egy detektálásra, szűrésre használt modalitás. A jelenlegi teljes test PET/CT leképezés erre még nem alkalmas, tekintettel arra, hogy az FDG-halmozás az in situ daganatoknál a fizikai felbontás korlátja miatt nem detektálható, illetve egyes tumortípusokban (pl. low grade daganatok, lobularis carcinoma) az FDG nem vagy alig halmozódik [123,124]. A malignus és benignus léziók elküönítésében az ún. dual-time PET/CT (két, a halmozás-dinamikai görbe eltérő pontján végzett leképezés) ígéretes eredményeket hozott, de ennek elterjedése, különösen idő-igényessége miatt a mindennapi gyakorlatban nem reális [125]. Így a PET/CT az emlőtumor detektálására, szűrésre jelenlegi formájában nem alkalmas [126].

A primer daganat lokális stagingjében - a detektáláshoz hasonlóan – a sikeresség nagyban függ a tumor méretétől, szövettani típusától és a grade-től. 1 cm alatti tumorok esetén az FDG-PET/CT szenzitivitása mindössze 57%, az in situ daganatokra pedig 25%, szemben az 1 cm-t meghaladó daganatoknál elért akár 91%-os érzékenységgel [127]. Amennyiben 2-2,5 SUV határértéket alkalmazunk, a benignus és malignus léziók 90%-os pontossággal különíthetők el egymástól [127]. Azonban multifokális betegség esetében az emlő-MRI meghaladja az FDG-PET/CT szenzitivitását és pontosságát [125]. Az axilláris staging esetén a PET/CT szenzitivitása 50-79%, míg specificitása 89-96% [128]. Noha a vizsgálat pozitív prediktív értéke magas (~88%) de negatív PET/CT alapján az őrszem nyirokcsomó vizsgálat nem elhagyható [129].

A lokálisan előrehaladott daganatok (stádium II-III) regionális stagingjében és a távoli áttétek detektálásában az FDG-PET/CT előnye vitathatatlan. A konvencionális képalkotással szemben (komplex emlődiagnosztika + mellkas röntgen vagy CT + hasi UH vagy CT + csontszcintigráfia) 5-56%-al több nyirokcsomó metasztázist és 7,5-38%-al több távoli metasztázist képes detektálni (10. táblázat). Pontos a supra- és

infraklavikuláris, pectoralis és mamma interna menti nyirokcsomó stagingjében. 27%-al több N3 stádiumú daganatot ír le, mint a konvencionális képalkotó modalitások [130]. A nyirokcsomó státus pontosítása a betegek több mint 10%-ban módosíthatja a terápiás tervet, különös tekintettel a sebészi kezelést és sugárterápia kivitelezését [125].

10. táblázat. Az FDG-PET/CT jelentősége a nyirokcsomó metasztázisok és távoli áttétek kimutatásában a konvencionális képalkotással szemben. (Forrás: [125])

Vizsgálat	N	bevonási kritérium	FDG-PET/CT hatékonysága			
			Ismeretlen nyirokcsomó áttét	Ismeretlen távoli áttét	Stádium módosítás	Kezelés módosítás
Groheux et al., 2008	39	Stádium II/III	8%	10%	18%	13%
Heusner et al., 2008 [†]	40	T1-3 ill. mastitis carcinomatosa	7.5%	7.5%	na	12.5%
Fuster et al., 2008	60	T > 3 cm [‡]	5%	8.5%	42%	6.5%
Yang et al., 2008	24	mastitis carcinomatosa	25%	38%	na	na
Carkaci et al., 2009	41	mastitis carcinomatosa	15%* és 22%**	17%	na	na
Alberini et al., 2010	59	mastitis carcinomatosa	56%	31%	na	na
Aukema et al., 2010 [†]	60	Stádium II/III	17%	na	17%	12%
Segaert et al., 2010	70	Stádium IIB/III	13%**	10%	na	na

Rövidítések: na: nincs adat. [†] A PET/CT mellett kiegészítő emlő, illetve emlő és axilla régió PET vizsgálat is készült; * szupraklavikuláris, ** mamma interna régió. [‡] kivéve mastitis carcinomatosa

A távoli metasztázisok tekintetében az FDG-PET/CT előnye a teljes-test leképezés miatt jelentős, alkalmazásával a multimodális képalkotás kiváltható. A távoli nyirokcsomó és viszcerális metasztázis kimutatásában pontos, de a pulmonális nodulusok karakterizálásában a rész-térfogati hatás és a légzőmozgások miatt korlátozott a pontossága (5 mm és alatta). A megfelelő protokollal kivitelezett FDG-PET/CT vizsgálat CT képein minden pulmonális nodulus látható. A fiziológiás központi idegrendszeri FDG-felvétel korlátozza az agyi metasztázisok detektálhatóságát, így a vizsgálat a koponya MRI-t nem helyettesítheti. Csontmetasztázisok tekintetében az oszteolitikus és kevert típusú, valamint csontvelőt érintő léziók esetén az FDG-PET/CT pontosabb a csontszcintigráfiánál vagy CT vizsgálatnál. A vizsgálat CT-komponensén minden szklerotikus csontáttét is ábrázolódik. [125,131,132]

Az FDG-PET/CT tehát potenciálisan hasznos modalitás a II-III. stádiumú daganatok stagingjében. Nem csupán új léziók felfedezésére alkalmas, de meglévő elváltozások

viabilitását igazolhatja vagy cáfolhatja, ezáltal downstaging szerepe is lehet a konvencionális képalkotással talált léziók tisztázása során. Terápiamódosító jelentősége a stádium előrehaladtával nő (St. IIA: 5.6%, IIB 14.6%, IIIA 27.6% - főleg N2 betegek esetén). [126,133].

Restaging vizsgálatok tekintetében az FDG-PET/CT önmagában utánkövetésre nem javasolt, de metasztázis klinikai gyanúja esetén (tünetek, tumormarker emelkedés stb.), a távoli szervi és nyirokcsomó áttétek detektálásában leírt magas érzékenysége miatt potenciálisan alkalmazandó képalkotó eljárás. A PET/CT szenzitivitása restaging esetén 81-96%, míg specificitása 52-100% között mozog, magas pozitív és negatív prediktív értékkel (41-99% és 74-96%). A konvencionális képalkotást az eddigi vizsgálatokban rendre felülmúlta, különösen akkor ha a natív CT helyett intravénás kontrasztos CT képalkotás egészíti ki a PET vizsgálatot – ekkor pontossága a 98%-ot is eléri [125].

Az irodalmi adatok alapján az FDG-PET/CT emlődaganatok esetén sikerrel alkalmazható a sugárterápia tervezése során: a hibrid képalkotás képes meghatározni a viabilis tumorszövet kiterjedését és annak pontos lokalizációját. Hasonló megfontolások alapján alkalmazható a biopsziavétel helyének pontos meghatározására, amennyiben más diagnosztikus modalitással az nem határozható meg egyértelműen. [126]

1.3.5.6. Terápiakövetés FDG-PET/CT-vel

Emlődaganatokban a stagingben betöltött fent részletezett szerepe mellett az FDG-PET/CT legnagyobb jelentősége a terápiás válasz mérésében lehet. A PET/CT képalkotással végzett válaszmérés előnye, hogy a gyógyszer indukálta morfológiai változásokat gyakran megelőzik a daganatban létrejövő metabolikus változások, melyek leképezésével korábban vizsgálhatjuk a tumor reakcióját a kezelésre. A terápiás válasz mérésekor a patológiai válasz alapján elkülönített terápiára érzékeny és arra nem reagáló betegek között az emlőtumorok FDG-halmozásának számszerűsíthető különbségei figyelhetők meg (ebben az indikációban a PET és PET/CT teljesítőképessége között nincs jelentős különbség). [109,125]

Citotoxikus kezelés esetén az elkülönítés patofiziológiája egyértelmű: a fellépő sejtkárosodás és apoptózis révén a viabilitás, ezáltal pedig az FDG-felvétel is csökken. Emellett az emlődaganatok kemoterápiájában is alkalmazott ciszplatin például downregulálja a hexokináz és a GLUT-1 és GLUT3 expressziót, a paclitaxel és a topotekán pedig a glikolízis regulatorikus útvonalainak aktivitását csökkentik, az abban szereplő gének (főképp a HIF-1-alfa) transzlációjának gátlásán keresztül. [107,112]

Kemoterápia esetén az FDG-PET/CT igen szenzitívnek bizonyult a terápiás válasz értékelésében a teljes kezelési ciklust követően. A primer tumor esetén a pCR előrejelzésében – egy 950 beteg adatait feldolgozó metaanalízis alapján – a vizsgálat 84% szenzitivitású, 66%-os specificitású, 50%-os pozitív prediktív (PPV) és 91% negatív prediktív értékkel (NPV). A nyirokcsomók esetén a szenzitivitás 92% volt, 88%-os NPV mellett [134]. A SUVmax változása prediktív a pCR-re, vitatott azonban, hogy mi a SUV csökkenés azon vágópontja, mely pontosan elkülöníti a terápiás választ mutató és a terápiára nem reagáló betegeket (11. táblázat) [123,125,134].

11. táblázat. A terápiás válasz értékelése FDG-PET és PET/CT segítségével a PST után. Adatok forrása: [123,125,134]

<i>Vizsgálat</i>	<i>N</i>	<i>Stádium</i>	<i>Kezelés</i>	<i>Patológiai kritérium</i>	<i>PET kritérium</i>
<i>Wahl et al, 1993 (PET)</i>	11	LABC	AC	pCR	R:-48% Δ SUV NR:-19% Δ SUV
<i>Bassa et al, 1996 (PET)</i>	16	Stádium II/III	FAC	na	R: Δ SUV>51%
<i>McDermott et al, 2007 (PET)</i>	96	LABC	Anthraciklin bázisú	pCR/pMRD	Δ SUV >64%
<i>Kim et al, 2004 (PET)</i>	50	LABC	AC, AT, TAC vagy TX	pCR pPR	Δ SUV >79%
<i>Dose-Schwarz, 2010 (PET)</i>	89	LABC	ET vagy ddET+CMF	pCR/ pMRD	SUV < 1.5
<i>Jung et al, 2010, (PET)</i>	66	Stádium II/III	TX vagy AC	pCR	Δ SUV >85%
<i>Park et al, 2011 (PET)</i>	32	LABC	ATX TG+HER	pCR	Δ SUV >50%
<i>Choi et al, 2010 (PET/CT)</i>	41	T >4cm vagy N/II	AC	pCR	Δ SUV >50%

Rövidítések: LABC: lokálisan előrehaladott emlőrák, T3-4/N vagy T/N2 és M0. pCR:patológiai komplett remisszió; pPR: parciális remisszió; pMRD: minimális reziduális betegség; R: responder; NR: nonresponder, A: adriamycin, E:epirubicin, T: taxán, C:cyclophosphamid, M:methotrexate, F:fluorouracil; X: capecitabin, G: gemcitabin; HER: trastuzumab. na: nincs adat

Az FDG-halmozás fennmaradása a kemoterápia komplettálása után fordítottan arányos a betegségmentes túléléssel [135]. Az FDG halmozás hiánya azonban nem jelenti feltétlenül a teljes pCR megvalósulását. Különösen jellemző ez a minimális reziduális betegség (MRD) esetében, ahol a posztoperatív szövettani feldolgozás során észlelt mikroszkópikus reziduális tumorfókuszok makroszkóposan nem detektálhatóak. A PET kamera felbontása is véges: 6-7 mm-nél kisebb reziduális tumorok, illetve a kisméretű axilláris nyirokcsomók esetén a terápia utáni reziduális áttétek felfedezésében

hatékonysága limitált. Szintén nem alkalmas az FDG-PET/CT low grade lobuláris és tubuláris carcinomák, illetve LCIS és DCIS kimutatására. [123]

Az FDG-PET/CT vizsgálat megfelelő időzítése a PST során vitatott kérdés. Több munkacsoport eredményei bizonyították (12. táblázat), hogy a PET/CT nem csupán a műtétet megelőző restaging esetén, de már a PST megkezdése után, néhány kezelési ciklust követően is képes elkülöníteni a terápiára reagáló és nem reagáló betegeket [125]. A két ciklust követő interim vizsgálatok tűnnek a legpontosabbnak a nemzetközi eredmények fényében, de a korai metabolikus tumorválasz már az első ciklust követően prediktívnek bizonyult a későbbi pCR szempontjából. Azonban itt is kérdés a SUV változás pCR-re prediktív vágópontjának standardizálása, mely jelenleg még nem megoldott [134,136].

12. táblázat. Interim FDG-PET/CT emlődagaganatokban. Adatok forrása: [134,136-138]

<i>Vizsgálat</i>	<i>N</i>	<i>Stádium</i>	<i>PST</i>	<i>Az interim PET időzítése</i>	<i>PET kritérium*</i>
<i>Schelling et al. 2000</i>	22	LABC és >3cm	EC/ET	1. és 2. ciklus után	-55% (2. ciklus után)
<i>Smith et al. 2000</i>	30	T3-4, N2 LABC	CVAP	1., 2., 5. ciklus után (dinamikus PET!)	DUR** >20% (1. ciklus után)
<i>Rousseau et al. 2006</i>	64	Stádium II/III	FECx6 / FECx3 + Tx3	1., 2., 3. ciklus után	-40% (2. ciklus után)
<i>Berriolo-Riedinger et al. 2007</i>	47	LABC	anthraciklin/ taxán bázisú	1. ciklus után	-60% (1. ciklus után)
<i>Duch et al. 2009</i>	50	Stádium IIB/III	EC + paclitaxel	2. ciklus után	-40% (2. ciklus után)
<i>Schwarz-Dose et al. 2009</i>	104	Stádium III és LABC	ET-CMF	1. és 2. ciklus után	-45% (1. ciklus után) -55% (2. ciklus után)
<i>Martoni et al. 2010</i>	34	T2-4, N0-3	anthraciklin/ taxán bázisú	2., 4. ciklus után	-50% (2. ciklus után)
<i>Keam et al. 2011</i>	78	Stádium II/III	AT	1. ciklus után	-50% (1. ciklus után)
<i>Kolesnikov-Gauthier et al. 2012</i>	63	T2-3, N0-2, M0	3 FEC 100 → Docetaxel	1. ciklus után	ha a csökkenés < 15%: a kezelés hatástalan
<i>Keam et al. 2011</i>	78	tripla neg. LABC	EC → docetaxel	2. ciklus után	-42% (1. ciklus után)
<i>Andrade et al. 2013</i>	40	Stádium II/III	anthraciklin/ taxán bázisú	2. ciklus után	-59.1% (2. ciklus után)

Rövidítések: ld. 11. táblázat *a Δ SUV értéke, azaz a kiindulási SUVmaxhoz képesti százalékos csökkenés mértéke **DUR=dose uptake ratio (a dinamikus és statikus vizsgálatok alapján Patlak analízis segítségével kalkulált voxelenkénti FDG-felvétel)

A célzott kezelések monitorozása FDG-PET/CT vizsgálat segítségével szintén nyitott kérdéseket hordoz. A citosztatikus terápia monitorozásakor bonyolultabb biológiai mechanizmuson állnak a sejtek FDG-felvételében bekövetkezett változások hátterében. Az ösztrogén-függő növekedés a tumor glikolitikus aktivitásának és a GLUT-1 expressziójának szignifikáns növekedésével jár. A növekedési receptor jelátviteli útvonalon a MAPK kaskád és az AKT szignáltranszdukciója közvetetten szintén összefüggést mutat a glikolízis stimulációjával és a HIF1-alfa útvonalat serkentésével. Így a fenti folyamatok gátlásának kimutatásával a célzott terápiák esetén is alkalmas lehet a terápiára adott válasz értékelésére az FDG-felvétel változásának mérése. [112]

A különböző biológiai szubtípusú daganatok eltérő FDG felvétellel bírnak (ld. 1.3.5.7 fejezet). Noha a hormonpozitív daganatok FDG-felvétele kisebb, így a PET képalkotásra kevésbé alkalmasak, Ueda és munkacsoportja kedvező eredményeket talált letrozol terápia esetén végzett korai válaszméréssel: 4 hét után az FDG felvétel 40% feletti csökkenése a pCR-re prognosztikusnak bizonyult [139]. Tamoxifen kezelés mellett viszont az iniciális, 10 napot követő megnövekedett az FDG-felvétel (ún. „metabolic flare”) bizonyult prognosztikusnak a kedvező kimenetelre [140].

A Her2-overexpresszáló tumorok esetén limitált számú önálló vizsgálat áll rendelkezésre az FDG-PET/CT hatékonyságával kapcsolatban, különösen a trastuzumab terápia alkalmazásának tekintetében. Preklinikai vizsgálatokban a PET alkalmas volt a trastuzumab által kiváltott terápiás válasz mérésére [141], azonban a klinikai vizsgálatok már ellentmondásosabb képet mutatnak [142-144]. Ennek oka lehet a biológiai terápiák esetén feltételezett interferencia az FDG-metabolizmussal. A trastuzumab egyrészt gyulladásszerű reakciót okozhat a tumorban az ADCC mechanizmusok aktiválása miatt, mely fals pozitív PET leletet eredményezhet [144], emellett pedig magára a celluláris FDG felvételre és metabolizmusra is hatással van: csökkenni a hexokináz 2 és GLUT-1 expressziót [145]. Ennek ellenére az FDG-PET/CT-t több munkacsoport alkalmasnak találta a korai válasz értékelésére, és igazolták prediktivitását a pCR-re, kemoterápiát követő trastuzumab kezelés és konkomittáns terápiák esetén is. Ugyanakkor a Her2-pozitív daganatok esetén nem írható le olyan egyértelmű az összefüggést a Δ SUV és a pCR között, mint tripla negatív tumorokban, különösen a korai válasz mérése során [142,143,146].

A PST-vel elért tumorválasz monitorozására végzett PET/CT vizsgálatok módszertana és kiértékelése jelenleg még nem standardizált. Ebben a különböző munkacsoportok eltérő vizsgálati körülményei mellett az is nagy szerepet játszik, hogy

jelenleg nincs még minden európai és tengerentúli PET-vizsgálóhelyre kiterjedő standardizált SUV meghatározást biztosító program, bár történnek ebben az irányban erőfeszítések (EARL). A staging során a radiofarmakon felvételt rutinszerűen a SUVmax paraméterrel jellemzik - az 1.3.5.5. fejezetben bemutatott vizsgálatok esetében is. A SUVmax mellett azonban az 1.3.5.3.2 fejezetben bemutatott SUVavg, MTV és TLG is alkalmas lehet az emlődaganatok esetében végzett vizsgálatok eredményeinek számszerűsítésére, ráadásul az utóbbiak kevésbé szenzitívek a rekonstrukció zajosságára [121]. A SUVmax vitathatatlan előnye, hogy egyszerűen, bármely forgalomban lévő munkaállomáson mérhető, szemben a SUVavg, MTV és TLG értékekkel. Kérdés, hogy ismerve limitációit, emlődaganatok esetén megfelelő-e az alkalmazása. Saját munkacsoportunk e célból vizsgálta a SUVmax, SUVavg, MTV és TLG összefüggéseit az emlődaganatok klinikopatológiai jellemzőivel. Az N stádium kivételével a SUVmax tükrözte a legpontosabban a daganatok klinikopatológiai tulajdonságait, míg az axilláris státus pozitívását az MTV jobban reflektálja. A TLG korai változása ösztrogén pozitív tumorok esetén jobban előrejelzte a tumorválaszt, mint a SUV változása, azonban a Her2-pozitív és tripla negatív tumorokban – a PST kemo-, és célzott terápia fő célcsoportjaiban – a TLG nem mutatott összefüggést a pCR-rel [142,146].

Következésképpen a nemzetközi eredmények alapján elterjedten használt és egyszerűen mérhető SUVmax, annak ellenére, hogy meghatározása több buktatóval bír, a gyakorlatban emlődaganatok esetén jól alkalmazható szemikvantitatív paraméternek bizonyult, így további, jelen disszertációban bemutatott kutatásaink során ezt a paramétert használtuk a tumor-metabolizmus jellemzésére.

1.3.5.7. Összefüggések az FDG-felvétel és az emlődaganatok klinikopatológiai tulajdonságai között

Számos nemzetközi tanulmányok vizsgálata az FDG-felvétel és a különböző klinikopatológiai markerek összefüggéseit. Ezek ismerete a terápiás válasz mérését is nagyban befolyásolhatja, nem csupán abban a tekintetben, hogy az eltérő biológiai viselkedést mutató daganatok kezelése is eltér, de a különböző daganatok eltérő FDG-felvételének ismerete segíti a PET/CT vizsgálat megfelelő indikációjának felállítását is.

Mindenekelőtt kiemelendő, hogy az FDG-felvétel önmagában is prognosztikai értékkel bír. A magas SUVmax értékű daganatok prognózisa rosszabb, bár a prognosztikus vágópont nem egyértelműen definiált [125]. PST esetén az alacsony kiindulási FDG-felvétel a kemoterápiás rezisztencia indikátora lehet [147].

A daganatok mérete ellentmondásos összefüggésben áll az FDG-felvétellel, míg Buck és Groheux nem [148,149], addig több munkacsoport szignifikáns korrelációt írt le a tumorméret és az FDG-aviditás között [124,150,151]. A nyirokcsomó érintettség tekintetében szintén ellentmondó eredményeket találhatunk [148,151,152], fellelhető a primer tumor által mutatott magas FDG-felvétel és a pozitív axilla előfordulása közötti pozitív korrelációra vonatkozó irodalom [153], de azzal ellentmondó is [149].

A daganatok szövettani típusát tekintve elmondható, hogy a duktális karakterű tumorok alkalmasak az FDG-PET/CT képalkotásra, míg a lobuláris, illetve mucinózus tumorok FDG felvétele jellemzően alacsony [148,149,152,154,155]. A mikroér denzitás a tumor érellátásának jellemzésére használt patológiai marker a szövettani feldolgozás során, értéke szoros összefüggést mutat az FDG felvétellel [148].

A magasabb grade és magasabb FDG-felvétel összefüggését több tanulmány hangsúlyozza, alacsony grádusú daganatok ritkán alkalmasak PET/CT leképezésre [149,153,156,157]. A daganatok mitotikus aktivitása és a proliferációs ráta is szignifikánsan összefügg az FDG-felvétel mértékével [150,158], különösen tripla negatív tumorok esetén [159]. Szignifikáns, pozitív korreláció igazolódott a Ki-67 index expressziója és a SUVmax értéke között [148,159,160]. A p53 mutáció általában rosszabb prognózissal társul, de a p53 státus és az FDG felvétel összefüggése az irodalmi adatok alapján nem egyértelmű [149,160].

Míg a korai vizsgálatok alapján önmagában az ösztrogén, progeszteron receptor és a Her2 expresszió nem mutatott összefüggést az FDG-felvétellel [148], a nagyobb betegszám bevonása mellett végzett új vizsgálatok igazolták, hogy a különböző biológiai szubtipusok eltérő metabolikus aktivitással rendelkeznek. Az irodalmi adatok azonban továbbra is ellentmondásosak. A Her2 expressziót tekintve egyaránt leírták az FDG-felvétel és Her2 expresszió szignifikáns [153] és nem szignifikáns összefüggését [149] is. A Her2-pozitív daganatok esetén a trastuzumab korábban részletezett esetleges hatásai az FDG-metabolizmusára szintén befolyásolják a képalkotást a terápiás válaszmérés során. A Her2-pozitív daganatokban emellett az inzulinszerű növekedési faktor 1 (IGF-1) és HIF1-alfa expressziót magasabbnak találták a többi szubtipushoz képest, míg a GLUT-1 overexpresszió a tripla negatív, különösen a bazális-típusú daganatok esetén a legkifejezettebb [161,162]. A tripla negatív daganatok esetében szignifikánsabb magasabb metabolikus aktivitás írtak le, mint egyéb szubtipusokban [149,156,157]. A legfrissebb tanulmányok szerint a hormon receptor státusz is szignifikánsan korrelál a FDG-felvétellel [149,156,157,163].

A biológiai szubtypusokat tekintve összefoglalva elmondható, hogy a tripla negatív – különösen a bazális típusú tumorok – és a Her2-pozitív daganatok FDG-felvétele lényegesen magasabb, mint a hormon pozitív tumoroké, az ösztrogén negativitás pedig önmagában is korrelál a magasabb FDG-felvétellel [149,156,157,163,164].

1.3.5.8. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok emlődaganatok esetében

Emlőtumorok esetén a dinamikus PET/CT képalkotás még gyerekcipőben jár, kérdéses, hogy az FDG-felvétel abszolút kvantifikálása és a radiofarmakon felvétel kompartmentmodellben meghatározott sebességi állandói, különösen az FDG influx mértéke bír-e prediktív vagy prognosztikus jelentőséggel e daganattípusban. A dinamikus képalkotás és a potenciális új biomarkerek a lokálisan előrehaladott daganatokban a PST-re adott terápiás válasz *in vivo* mérésében lehetnek a legelőnyösebbek. A dinamikus képalkotás hatékony a terápiás válasz mérésében is, még alacsony terápia előtti FDG-felvételt mutató daganatok esetében is [165].

A sebességi állandók tekintetében a PST-t követő alacsony K_i és K_l a patológiai komplett remisszióra prediktívnek bizonyult [166-168]. A túlélést tekintve az K_i , K_l a DFS és OS-t tekintve prognosztikus [166,169]. A magas kezelés előtti SUV mellett a K_i értéke is magasabb ER negatív, high grade daganatokban, melyek magas osztódási potenciált mutatnak [166].

1.3.6. A terápiás válasz mérésére alkalmazható képalkotó score rendszerek

A terápiás válasz objektívizálása és a standardizált értékelés igénye a válaszmérés racionális követelménye. A tumorválasz kvantitatív értékelése során az elsődleges cél a reprodukálhatóság, összehasonlíthatóság és egyszerűsítés, megtartott pontosság és megbízhatóság mellett. A tumorválasz négy alapvető kategóriába sorolható, ezek a kategóriák minden rendszer alapjait jelentik: komplett remisszió (CR), parciális remisszió (PR), stabil betegség (SD) és progresszió (PD) (13. táblázat).

1.3.6.1. WHO és RECIST kritériumrendszerek

A World Health Organization (WHO) kritériumrendszer volt az első objektív skála a daganatok terápiás válaszána morfometriai értékelésére. Elsőként írta le a négy fenti válaszkategóriát, definiálta a mérhető és nem mérhető léziókat. Bidimenzionális értékelés javasolt a leghosszabb és arra mérőleges átmérő szorzatával, illetve több lézió esetén ezek összegével. A válaszkategóriák e változók közti különbség százalékos arányán alapulnak. A két mérés között legalább 4 hétnek kellett eltelnie [170]. A WHO

kritériumok jó első lépésnek bizonyultak, de nem voltak egységesen alkalmazhatóak minden betegségtípusra. Emellett a mérhető és nem mérhető léziókat az csak felületesen definiálta, illetve az értékelendő léziók számáról sem nyilatkozott a rendszer. [171]

A következő lépés a Response Evaluation Criteria In Solid Tumors (RECIST 1.0) rendszer kidolgozása volt [172], melynek továbbfejlesztett, RECIST 1.1 változatát használjuk ma is a klinikai gyakorlatban [173]. Az egyik legfontosabb megállapítás, hogy a kontrollvizsgálatok során mindig azonos modalitást és azonos technikát kell alkalmazni a komparabilitás növelésének érdekében.

13. táblázat. A WHO, RECIST 1.1, EORTC és a PERCIST 1.0 kritériumrendszerek összehasonlítása. [117,170,173,174]

	WHO	RECIST 1.1	EORTC	PERCIST 1.0
CR/ CMR	Az összes cél lézió és nem cél-lézió CR, 2 különböző mérés alapján 4 héten belül	Nem maradt mérhető cél-lézió (LD <10 mm) és minden patológiás nyirokcsomó SAD <10mm. Nem cél-léziók: CR és normál tumormarkerek.	Az FDG-felvétel teljes eltűnése, az FDG-felvétel a környező normál szövet szintjére csökkent	A cél-lézió FDG felvételének teljes megszűnése (\leq a háttér vér (BBP) vagy a máj-aktivitás szintje). Minden további lézió \leq BBP. Ha RECIST szerinti PD: utánkövetés szükséges
PR/ PMR	A méret csökkenés $\geq 50\%$, új elváltozás nélkül	A kiinduláshoz képest a méret csökkenés $\geq 30\%$ vagy a cél-léziók CR-t, de a nem cél-léziók PR-t/SD-t mutatnak	SUV csökkenés $\geq 15\%$ egy terápiás ciklus után, vagy $\geq 25\%$ több ciklus után, új elváltozás nélkül. A tumorméret egyidejű csökkenése nem feltétele a PMRnek	a SUV/SUL csökkenés $\geq 30\%$ a cél és nem cél-léziókban, nincs újonnan felfedezett metabolikus aktivitás. RECIST szerint PD esetén utánkövetés szükséges
SD/ SMD	méret csökkenés $< 50\%$ vagy méret növekedés $< 25\%$	A cél-léziók méret csökkenése $< 30\%$ vagy a növekedés $< 20\%$ és a nem cél-léziók sem mutatnak PD-t	aktivitás csökkenés $< 15\%$ vagy a növekedés $< 25\%$ (emellett nincs $20\% <$ növekedés a halmozás hosszabbik átmérőjében)	Az FDG-felvétel változása sem a CMR, sem a PMR sem a PMD kritériumainak nem felel meg.
PD/ PMD	$25\% \leq$ a méret növekedés, vagy új lézió megjelenése	$20\% \leq$ méret növekedés, ami legalább 5 mm, vagy nem cél-léziók egyértelmű progressziója, vagy új lézió megjelenése.	a növekedés $25\% \leq$ az aktivitás, vagy $20\% <$ a hosszabbik átmérőben, vagy új lézió megjelenése	$30\% \leq$ aktivitás-növekedés, melynek mintázata tumornak megfelel (nem gyulladás/terápiás hatás eredménye) vagy látható növekedés a halmozás kiterjedésében (75% a TLG volumenben) vagy új lézió jelent meg. Utánkövetés: 1 hónap, kivéve, ha RECIST is progressziót igazol

Rövidítések: CR/CMR: komplett remisszió/komplett metabolikus remisszió; PR/PMR: parciális remisszió/parciális metabolikus remisszió; SD/SMD: stabil betegség/stabil metabolikus betegség; PD/PMR: progresszív betegség/progresszív metabolikus betegség. TLG: total lesion glycolysis. BBP: háttéraktivitás - vérpool

A RECIST rendszerek az unidimenzionális mérést részesítik előnyben a bidimenzionális helyett, a rendszer a primer lézió leghosszabb átmérőjét (ún. „longest diameter”, LD) tekinti a válaszmérés alapjának. A nyirokcsomók esetén bevezették a rövidebbik merőleges átmérőt („short axis diameter”, SAD) fogalmát, mely a

leghosszabb átmérőre merőleges legnagyobb rövid átmérő, ennek patológiás méretharára 10 mm, és 15 mm felett tekinthető a nyirokcsomó céllézióknak. A RECIST 1.1. szerint maximális célléziók száma 5, szervenként 2, emellett bevezették a nem mérhető léziók fogalmát is (pl. lymphangitis carcinomatosa). [171,173]

A progresszió tekintetében szintén finomodtak a kritériumok, például az immunterápia és biológiai kezelések hatására bekövetkező iniciális méretnövekedést is megengedően kezeli a rendszer. Ilyen esetben minimum 4 hónap kezelés után értékelhető a terápiás válasz. Emellett módosított, daganat specifikus RECIST kritériumok is születtek pl. májtumorok esetén. [171,173]

1.3.6.2. EORTC és PERCIST rendszer

A funkcionális képalkotásba a RECIST rendszer nem ültethető át, mivel e képalkotó modalitások által értékelt remisszió mögött eltérő fiziológiás változások állnak, és e modalitások metodikai szempontból is eltérnek a morfológián alapuló válaszméréstől: értékelik a tumorok viabilitását, azok metabolikus változásait, s ezeket szemikvantitatív mérőszámokban fejezik ki. A továbbiakban a PET/CT vizsgálat szolid tumorokban alkalmazható válaszmérő kritériumrendszerét tárgyaljuk részletesebben. [117]

Az EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) kritériumok bevezetése azon a felismerésen alapult, hogy szubklinikai metabolikus válasz megelőzi a morfológiai tumorválaszt, de ennek méréséhez a vizsgálatok standard kivitelezése elengedhetetlen [174]. A terápiás válasz mérőszámaként a SUV értéket javasolták. Deklarálták az egyforma és identikusan lokalizált ROI térfogatok definiálásának fontosságát. A résztérfogat hatás miatt a metabolikus aktivitás mellett a léziók anatómiai méreteinek rögzítését is megköveteli a rendszer. Az EORTC score azonban, hasonlóan a WHO kritériumokhoz nem bizonyult elegendőnek sem standardizálási sem metodikai szempontból. A RECIST kritériumok mintájára Wahl és munkacsoportja 2009-ben bemutatta a PERCIST 1.0 kritériumrendszert. [117]

A PERCIST rendszerben a mérhető léziók száma maximum 5, ebből a legaktívabb lézió FDG-felvétele mérendő vagy több cél-lézió esetén a legaktívabb léziók aktivitásának összegét hasonlítjuk össze, legalább 4 hét eltéréssel. A PERCIST 1.2 cm átmérőjű ROI alkalmazásával javasolja a SUVpeak (állandó testtömeg esetén SUVmax opcionálisan használható) mérését. A cél-lézió optimálisan 1.5 cm átmérőnél nagyobb, a résztérfogat hatás elkerülésére. A háttéraktivitás mérése vagy a máj jobb lebenyében 3 cm-es gömb ROI-val vagy a leszálló aortában 1.5 cm-es gömb ROI-val megoldott. Az

utánkövetés során a ROI-t a megelőző vizsgálaton definiált régióba helyezzük, vagy a legnagyobb aktivitású reziduális lézióban mérünk. [117]

Kiemelendő, hogy a kiindulási és utánkövetési vizsgálatokhoz ugyanaz a berendezés, radiofarmakon, injektált dózis szükséges, ugyanolyan rekonstrukciós módszer mellett. Fontos kitétel azonban, hogy a PET/CT vizsgálat során végzett, rutinszerűen natív CT képalkotás csak igen korlátozottan alkalmas a RECIST 1.1 rendszerben való válaszmérésre. [117] Az utolsó kemoterápiás ciklus után legalább 2, optimálisan 3 héttel, irradiáció és sebészeti beavatkozás után minimum 4, de optimálisan 6 héttel tervezhető restaging PET/CT vizsgálat. A szupportív citokin terápia után 2 hét kihagyása javasolt, hogy a csontvelő aktivitás normalizálódhasson. [107]

1.3.7. Hazai ajánlások

A PST során a klinikai tumorválasz értékelésekor alapvető, hogy minden esetben azt a képalkotó modalitást alkalmazzuk a terápiás válasz mérésére, mellyel a kiindulási staging képalkotás is történt. A lokális staging tekintetében a fizikális vizsgálat és az UH képalkotás korlátozottan, de alkalmas a válasz mérésére, akár minden ciklus után. Az emlő-MRI-nek a lokoregionális staging mellett a terápiás válasz mérésében is helye lehet, különösen multifokális elváltozásoknál, azonban a megfelelő technikai feltételek megteremtése elengedhetetlen az MRI vezérelt biopsziák, tumor jelölések elvégzésére, melyek hazánkban még korlátozottan állnak rendelkezésre. Az emlőszcintigráfia rutinszerű alkalmazását még korlátozza a sestamibi halmozáskinetikáját befolyásoló molekuláris tényezők (pl. az MDR expressziója) hiányos ismerete. Az FDG-PET/CT a kezdeti, terápiát megelőző stagingben, ezáltal magában a PST indikációjában is jelentős szerepet játszik, emellett a vizsgálattal detektált metabolikus remisszió a szisztémás terápiára adott válasz korai indikátora. A kezelést követő restaging vizsgálat a sebészi eljárás tervezésében és az esetleges progresszió, metasztatizáció kizárásában is jelentős, mivel a korábbiakkal ellentétben teljes-test leképezést jelent. [175]

1.4. A PST-t követő lokoregionális ellátás és a patológiai remisszió értékelése

1.4.1. Lokoregionális kontroll a PST után

A PST-t követően a sebészeti ellátás kívánatos a PFS és OS optimalizálásához. 1990 előtt a mastectomia és ABD volt a standard, egyben legbiztonságosabbnak ítélt eljárás az emlőtumorok ellátására. A módosított radikális mastectomia (emlőbimbó-aerola komplex, emlő bőr és mirigyállomány eltávolítása) jelenleg is optimális eljárás, amennyiben emlőmegtartó műtét (BCS) nem végezhető. A BCS a korai stádiumban felfedezett emlődaganatok és a PST elterjedésével került előtérbe. A BCS kiegészítő sugárterápiával (T3-T4 illetve N2-3 esetén indokolt) ekvivalens eredményt jelent a mastectomiával szemben, mind a korai rekurrencia, mind az OS tekintetében. [176-179]

Az emlőmegtartó műtét feltétele a klinikailag I. vagy II. stádiumú szoliter daganat, a megfelelő tumor/ép-emplőszövet arány. A BCS legfőbb kontraindikációi a multifokális daganat, a nagy tumor/egészséges-emplő arány, a lokális recidíva korábbi BCS után, a mastitis carcinomatosa, valamint a kiegészítő irradiáció kontraindikációja. Relatív kontraindikáció a lokálisan előrehaladott betegség, de PST segítségével a BCS feltételei ebben az esetben is megteremthetőek. Pozitív sebészi szél esetén reexcízió, többszörös pozitivitás esetén mastectomia végzése ajánlott. A legjobb kozmetikai végeredmény elérése érdekében plasztikai sebészeti korrekció akár együlésben, akár halasztottan is végezhető. [179,180]

A hónalji nyirokcsomó régió lokális kontrollja igen vitatott kérdés a PST után. Amennyiben klinikailag pozitív a hónalji nyirokcsomó státus, úgy a kiterjedéstől függően I, II vagy III szintű ABD végzése továbbra is indokolt. Emellett klinikailag negatív axilla (sem képalkotó sem FNAB nem igazolt metasztázist) esetén az SLNB biztonságosnak és elégségesnek bizonyult a státus tisztázására [181]. Pozitív SLNB esetén kezdetben az ABD-ra kiterjesztést javasolták, de manapság eltérő a megközelítés mikro- és makroszkópos érintettség esetén. Izolált tumorsejt (≤ 0.2 mm) esetén az ABD nem indokolt. Mikrometasztázis tekintetében (< 2 mm) vitatott kérdés a radikalitás fokozása, T1 és T2 tumoroknál nem javasolt az ABD [182-184]. Az ACOSOG Z0011 vizsgálat makrometasztázis (> 2 mm) esetén, egy vagy két pozitív nyirokcsomó mellett sem találta az SLNB után végzett ABD-t kedvezőbbnek a lokális kontroll részeként végzett SLNB és sugárterápia kettősénél [183,185]. A legkorszerűbb ajánlások legalább 3 makroszkóposan érintett őrszem nyirokcsomónál tartják indokoltnak az ABD-t [186].

A PST tekintetében különösen érdekes kérdés az SLNB helyzete, kétséges, hogy klinikailag negatív axilla esetén az SLNB a PST előtt vagy az után kerüljön bevezetésre. A PST után igen gyakori a fals negatív SLNB, és az őrszem nyirokcsomó feltalálási aránya is romlik. Növeli az SLNB megbízhatóságát, ha kettős jelölést (ld. lent) végzünk, illetve növeljük az eltávolítandó nyirokcsomók számát (legalább 2, preferáltan 3 nyirokcsomó) [186-188]. Amennyiben az SLNB-t elvégezzük a PST előtt, annak negativitása esetén további beavatkozásra a kezelés után nincs szükség (kedvezőtlen terápiás válasz esetén azonban ez a megközelítés alulkezelést jelenthet), pozitív esetben pedig a PST után az emlő ellátása mellett ABD javasolt (de jó terápiás válasz mellett az ABD elvégzése túlkezelést hozhat magával). [82]

Mind a primer tumor mind a hónalji nyirokcsomó régió ellátásában kulcsfontosságú tehát a megfelelő betegszelekció. Emellett PST esetén a műtét előtt mind a primer tumor tekintetében mind a nyirokcsomó régióban tumorjelölés végzése is indokolt lehet. A primer tumor jelölhető ultrahang vezérelten titánium klippel vagy drótjelöléssel, illetve szükség esetén intraoperatív ultrahang is végezhető. A nyirokcsomóknál SLNB esetén vitális festéssel vagy radioizotóppal végezhető jelölés (technécium-99m-jelölt albumin kolloid beadását követő lymphoscintigráfia). Ez utóbbit kisméretű, okkult léziók lokalizációjára, illetve korai, nem tapintható emlődaganatok jelölésére is használják – ez az ún. „radioguided occult lesion localisation”, vagyis a ROLL módszer. [180]

Posztoperatív irradiáció BCS esetén feltétlenül szükséges lépés. Egyébiránt a radioterápia a kiindulási stádiumtól és a PST-t követő tumorválasztól függően alkalmazandó, nem elhagyható ypN1b felett, de N1a esetében, jó prognosztikai jellemzők mellett mérlegelhető a sugárterápia mellőzése. [14]

1.4.2. A műtéti hisztológia

A műtéti hisztológia során a szabad sebészi szél megítélése mellett a legfontosabb a terápiás válasz értékelése. A specimen részletes patológiai feldolgozása során mind a primer tumor mind az eltávolított axilláris nyirokcsomók esetében a tumor regresszió mértéke meghatározandó. Hasonlóan a klinikai válaszhoz a patológiai remissziót is négy kategóriába sorolhatjuk: komplett patológiai remisszió (pCR), parciális remisszió, stabil, illetve progresszív betegség. A post-terápiás patológiai TNM (ypTNM) stádium [48] is rögzítendő a leletezés során. Reziduális tumorszövet jelenléte esetén a prediktív (ER, PR, HER2 státus és Ki-67 LI) és prognosztikus markerek (grade, tumorméret, in situ komponens, többgócúság, (lympho)vaszkuláris infiltráció, nyirokcsomó áttétek

száma) ismételt meghatározására is sor kerül. Leírásra kerül a terápiára adott kötőszöveti reakció, illetve nekrozis is. A pCR definiálására, illetve reziduális tumor esetén a regresszió mértékének meghatározására többféle rendszer használatos. [14]

1.4.2.1. A patológiai komplett remisszió

A pCR kedvező prognosztikai faktor PST esetén, mind az OS mind a DFS szempontjából [50,54-56]. A pCR-t az FDA köztes terápiás végpontként engedélyezte, így meggyorsítandó a klinikai vizsgálatok eredményeinek értékelését, az új terápiák engedélyeztetését, hiszen a PST in vivo tesztje a terápiás szenzitivitásnak. Ehhez azonban konszenzusra volt szükség a pCR definíciójában.

Az FDA analízis 3 potenciális definíciót talált a pCR meghatározására: (a) ypT0/Tis (a primer tumor esetében az invazív komponens teljes remissziója) (b) ypT0/Tis ypN0 (sem az emlőben sem az axillában nem maradt invazív tumor) (c) ypT0 ypN0 (sem invazív sem in situ carcinoma nem maradt sem az emlőben sem az axillában). A meta-analízis (összesen 13000 beteg került bevonásra) a nyirokcsomó érintettséget szignifikáns összefüggőnek találta a rekurrencia és mortalitás növekedésével, míg az in situ komponens jelenlétének nem volt prognosztikus értéke. Következésképpen a *ypT0/Tis ypN0* definíció használata javasolt, azaz a pCR az invazív komponens teljes remisszióját jelenti a primer tumor és a mintavételezett nyirokcsomók (SLNB vagy ABD egyaránt alkalmas speciment szolgáltat) területén. [58]

1.4.2.2. Válaszmérő score rendszerek

A regresszió mértékének pontos definiálására több értékelőrendszer is használatos. Céljuk az objektivizálás, hasonlóan a klinikai remisszió értékelésében használatos kritériumokhoz, emellett alkalmazásuk összehasonlíthatóságot biztosít klinikai vizsgálatok esetén is. Vizsgálataink idején a Chevallier [189] és Sataloff [190] (14. táblázat), valamint az EWGBSP Konszenzus ajánlásait [191] (15. táblázat) alkalmazták a rutin diagnosztika részeként Magyarországon. Emellett a Miller-Payne osztályozás [192] és a CPS-EG prognosztikai rendszer [193] terjedt el a nemzetközi irodalomban.

A Chevallier besorolás négy kategóriája esetén kiemelendő, hogy a Chevallier I és II komplett remisszió kategóriák között csak a DCIS jelenléte/hiánya jelent különbséget [189]. Sataloff kategorizáció során a primer tumor (T) és a hónalji nyirokcsomók (N) regressziójának mértéke külön, szintén négy kategória mentén értékelendő. Szintén lényeges, hogy a Sataloff rendszerben a T-A kategória megengedően nyilatkozik a

DCIS jelenlétéről (T-A=ypT0/Tis) [190]. A két rendszer mégis közel azonos prognosztikai értékűnek bizonyult a tumorregresszió meghatározásában [194].

14. táblázat. Chevallier és Sataloff osztályozás a terápiás válasz mérésére PST kezelés után [189,190]

<i>Chevallier</i>		<i>Sataloff</i>	
I	nincs se makroszkópos se mikroszkópos reziduális tumor a primer tumorban vagy az axillában	T-A	Komplett remisszó, de a DCIS illetve izolált tumorsejtek jelenléte megengedett
II	DCIS, negatív nyirokcsomók mellett	T-B	>50%-os terápiás hatás
II I	Invazív tumor strómális fibrózissal/szklerózissal	T-C	<50%-os terápiás hatás
IV	Nincs vagy elenyésző tumorválasz	T-D	Hatástalan kezelés
		N-A	Terápiás hatások metasztázis jelenléte nélkül
		N-B	sem metasztázis sem terápiás hatás nincs
		N-C	terápiás hatás jelei metasztázis mellett
		N-D	metasztázis jelen van terápiás hatás nélkül

Az EWGBSP Konszenzus a Pinder [191] ajánlásokra alapuló osztályozási rendszer. Szintén külön értékeli a primer tumor és a nyirokcsomók regresszióját, ez utóbbinál kiemelő, hogy több különböző választ mutató nyirokcsomó esetén mindig a rosszabb választ tükröző besorolás a megfelelő. [14]

15. táblázat. A primer tumor (TR) és nyirokcsomó áttét (NR) megítélése PST után a 2009-es Kecskeméti Konszenzus dokumentum ajánlásai alapján. [14]

<i>Primer tumor (TR)</i>		<i>Nyirokcsomók (NR)</i>	
1	Teljes patológiai remisszió 1a: nincs reziduális carcinoma 1b: nincs reziduális invazív carcinoma, de van reziduális DCIS	1	nincs metasztázis, regresszió jelei sem láthatóak
2	Részleges terápiás válasz 2a: minimális (<10%) reziduális invazív daganat 2b: egyértelmű terápiás válasz 10-50% közötti reziduális (invazív) daganattal 2c: egyértelmű terápiás válasz, de >50% reziduális (invazív) daganattal	2	nincs metasztázis, de regresszió jelei láthatóak
		3	metasztázis regresszió jeleivel
3	Nincs regresszióra utaló jel	4	metasztázis regressziós jelek nélkül

2. Célkitűzések

Célunk volt olyan biomarkerek keresése, melyek alkalmasak a PST során a terápiás válasz pontos becslésére, ezáltal az optimális terápia kiválasztására. A biomarkerek azonosítására a digitális patológia és az FDG-PET/CT képalkotás eszköztárát alkalmaztuk. Vizsgáltuk a patológiai és a diagnosztikus képalkotás által definiált új biomarkerek hatékonyságát a PST predikciójában. Esettanulmányok formájában mutatjuk be a patológiai markerek és a képalkotás egymást kiegészítő, együttes értékét a stagingben és a terápiás válasz mérésében.

2.1. Tumorproliferáció, mint prediktív marker a PST során

- Összehasonlítottuk emlődaganatos betegeink immunhisztokémiai vizsgálatait esetén a digitális patológia és a rutin vizuális analízis módszereivel kapott eredményeket, hogy eldöntsük: a sejtciklus markereinek analízisére alkalmasak-e a digitális patológiai módszerek.

- A PST kezelés előtti core-biopsziák esetében a Ki-67 mellett értékeltük egyéb sejtciklus markerek (MCM2, a Ciklin A illetve a PHH3) expresszióját is, hogy pontosítsuk a PST indikációját a kezelés várható hatékonyságának korai előrejelzésével

- Összefüggéseket kerestünk a vizsgált daganatok klinikopatológiai tulajdonságai és a core-biopsziás mintákban detektált, illetve a reziduális daganat esetén a terápia ellenére perzisztáló daganatsejtek esetén detektált sejtciklus marker expresszió között.

2.2. FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében

- Összevetettük és értékeltük a tumorválasz objektívizálására rendelkezésre álló értékelő rendszerek (RECIST, PERCIST) és azok elődeinek (WHO, EORTC) alkalmazhatóságát a PET/CT-vel végzett válaszmérésben a PST során

- Kialakítottunk két, a klinikai gyakorlatban könnyen és idő-takarékosan alkalmazható pontrendszert: egy egyszerűsített, PERCIST kritériumrendszert alapjaiban magába foglaló osztályozási rendszert és egy kombinált, a PERCIST mellett a morfológiát módosított RECIST kritériumok szerint értékelő kritérium rendszert.

- Vizsgáltuk a PERCIST alapú és a kombinált értékelőrendszer alkalmazhatóságát a terápiás válasz predikciójában Her2 overexpressziót mutató betegek között standard és trastuzumabot is tartalmazó PST protokollok esetében is.

- Összehasonlítottuk a PERCIST alapú és a kombinált értékelési módszer hatékonyságát biológiai szubtípus szempontjából heterogén emlődaganatos betegcsoport esetében is.

2.3. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése

- Esettanulmány formájában mutatjuk be az ún. dinamikus PET/CT vizsgálatok alkalmazását a PST-t megelőző staging során az FDG-felvétel abszolút kvantifikálására. Értékeljük a módszer kivitelezhetőségét a mindennapi gyakorlatban, és új prediktív markereket kerestünk az FDG-felvétel kinetikájának analízise során.

- Esettanulmány formájában mutatjuk be a terápiaközi, ún. interim PET/CT alkalmazását a patológiai válasz előrejelzésében, és a terápiás döntést befolyásoló szerepét a PST során. Összefüggéseket kerestünk a tumorproliferáció markereivel, s igyekeztünk feltárni, milyen diagnosztikus lehetőségek állnak rendelkezésre ellentmondásosnak tűnő klinikopatológiai tulajdonságok esetén a mindennapi klinikai gyakorlatban.

3. Módszerek

3.1. Tumorproliferáció, mint prediktív marker a PST során

3.1.1. Betegbeválasztás

Vizsgálatainkba a betegbeválasztás a Semmelweis Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika Onkológiai Részlegén (2013 márciusa előtt: SE Radiológiai és Onkoterápiás Klinika Onkológiai Osztálya) PST-ben részesült emlődaganatos betegek adatainak retrospektív áttekintésével történt.

A betegbeválasztási kritériumok a következőképpen alakultak.

- (1) primer emlődaganat core-biopsziával alátámasztott diagnózisa
- (2) első kezelésként 2008.január.1 és 2013.december.31 között PST-ben részesült betegek (utánkövetés vége: 2014.szeptember.15)
- (3) staging FDG-PET/CT vizsgálat igazolta a távoli áttétek hiányát (cM0 stádium)
- (4) csak azon betegek kerültek beválasztásra, akik a PST-t követő műtéti ellátásba is beleegyeztek, így a műtéti szövettani diagnózis rendelkezésre állt.

3.1.2. Hisztopatológiai analízis

A PST-t megelőző core-biopsziás mintavételek esetében hematoxilin-eozin festett metszetek alapján a hisztológiai típust, nukleáris grade-et, tubulus formációt, mitózis indexet, gyulladásszerű és lymphoid sejtes infiltrációt, illetve az in situ komponens és a lymphovascularis invázió mértékét rögzítettük.

A műtéti szövettan elemzése során a disszertáció beadásakor érvényben lévő, 2009-es Kecskeméti Konszenzus dokumentum ajánlásai szerint azonosítottuk a patológiai válaszreakciót [14]. A pCR definíciója ypT0/ypTis volt, azaz a DCIS jelenléte a mintában megengedett volt [195]. Reziduális daganat esetén a felsorolt prognosztikus és prediktív faktorokat ismételtelen vizsgáltuk.

3.1.3. Immunhisztokémia

A sejtciklus működését, illetve annak szakaszait specifikusan jelző fehérjék (Ki-67, MCM2, Ciklin A, PHH3) expresszióját immunhisztokémiai (IHC) módszerekkel vizsgáltuk. Az IHC vizsgálatokhoz formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövettani blokkokból készített 3-4 µm vastag metszeteket használtunk. A metszetek a terápiát megelőző, core-biopsziás szövettani anyagok blokkjaiból, valamint a PST-t követő műtéti minták reprezentatív szövettani blokkjából készültek.

Az IHC vizsgálatokat a SE I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetének Molekuláris és Digitális Patomorfológiai Laboratóriumában kézi módszerrel végeztük [196]. Deparaffinálás után az endogén peroxidáz aktivitás blokkolása 0,5%-os hidrogén peroxidot tartalmazó metanol oldattal történt 20 percig. Az antigénfeltárást mikrohullámú sütőben végeztük (Whirlpool JET Chef JT366 6th Sense, Whirlpool Corp., Benton Charter Township, Michigan, USA), 45 percig, tris-EDTA pufferben (0.01 M Tris-0.1 M EDTA pH 9.0 puffere). A nem specifikus fehérjék blokkolására 5% BSA (bovin szérum albumin) oldatot (5% BSA, 0.1% Na-azid, 0.01% Tween 20) használtunk. Az antigén detektáláshoz a primer antitesteket a 16. táblázatban a felsorolt hígításban alkalmaztuk egy éjszakán át történő inkubálással, szobahőmérsékleten.

16. táblázat. Alkalmazott primer antitestek és hígításaik

Ellenanyag neve	Ellenanyag típusa	Ellenanyag Klón	Gyártó	Hígítás
MCM2	Monoklonális egér	Ab-1, MS-1726-P0/US	Lab Vision Corporation, Neomarkers, Fremont, CA, USA	1:200
Ki-67	Monoklonális egér	RTU MIB-1	Dako North America, Carpinteria, CA, USA	Ready-to-use
Ciklin A	Monoklonális egér	Ab-6, MS-1061-S0/US	Lab Vision Corporation, Neomarkers, Fremont, CA, USA	1:150
PHH3	nyúl poliklonális	369A-14	Cell Marque, Rocklin, CA, USA	1:200

A kötődés kimutatásához a tárgylemezeket Novocastra post-primer (linker) és Novolink polimer antitesttel (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Newcastle, UK) kezeltük, a gyártó instrukciói szerint. Az antigén-antitest reakciót diaminobenzidin/tormaperoxidáz (DAB) kromogén rendszerrel vizualizáltuk (Ultravision Detection System, Large Volume DAB Plus Substrate System; Lab Vision Corporation, Fremont, CA, USA) fénymikroszkópos ellenőrzés mellett, a barna színreakció megjelenéséig. Pozitív kontrollként tonsillát használtunk. A hematoxilinnel végzett magfestést víztelenítés és lefedés követte. A metszetek digitalizálása Panoramic Scan (3DHISTECH Kft., Budapest, Hungary) szkennelével történt.

3.1.3.1. Vizuális analízis

A vizuális analízis (VA) során a digitalizált metszeteken pozitív sejtek százalékos arányát adtuk meg. Az elemzést két vizsgáló, egymástól függetlenül végezte. Minden metszeten 400x nagyítás mellett legalább 500 daganatsejtben értékeltük a pozitívan festődött sejtmagok százalékos arányát. Az értékelést Dowsett ajánlásai alapján

végeztük, minden háttér feletti, magi pozitivitást pozitív festődésként értékelve, hasonlóan a Tökés és munkacsoportja valamint az Ali és munkacsoportja tanulmányában leírt módszerhez [16,24,197]. A VA alapján megadtuk a Ki-67, MCM2, Ciklin A és PHH3 markerek százalékos festődési indexét.

Emellett, a PHH3 esetében egy további értékelést is végeztünk: meghatároztuk a PHH3 index értékét [34-36]. A PHH3 index a 10 nagy nagyítású látótérben (NNL) számolt PHH3 pozitív sejtek száma (db/10 NNL). Bossard és munkacsoportja ajánlásai alapján [34], csak azokat a PHH3 pozitív magokat vettük számításba, melyek erős, denz festődést mutattak, utalva a profázist, metafázist, anafázist és telofázist jellemző kromatin rögökre. A granuláris karakterű magfestődést mutató sejteket a PHH3 index meghatározása során nem vettük figyelembe, mivel interfázisos sejteket képviselnek.

3.1.3.2. Computer-asszisztált analízis

A computer-asszisztált (CA) analízist a digitalizált metszeteken, a Panoramic Viewer szoftver (3DHISTECH Kft., Budapest, Hungary) segítségével végeztük, függetlenül a többi marker esetében kapott eredményektől, a klinikopatológiai adatoktól, valamint a VA analízis eredményeitől.

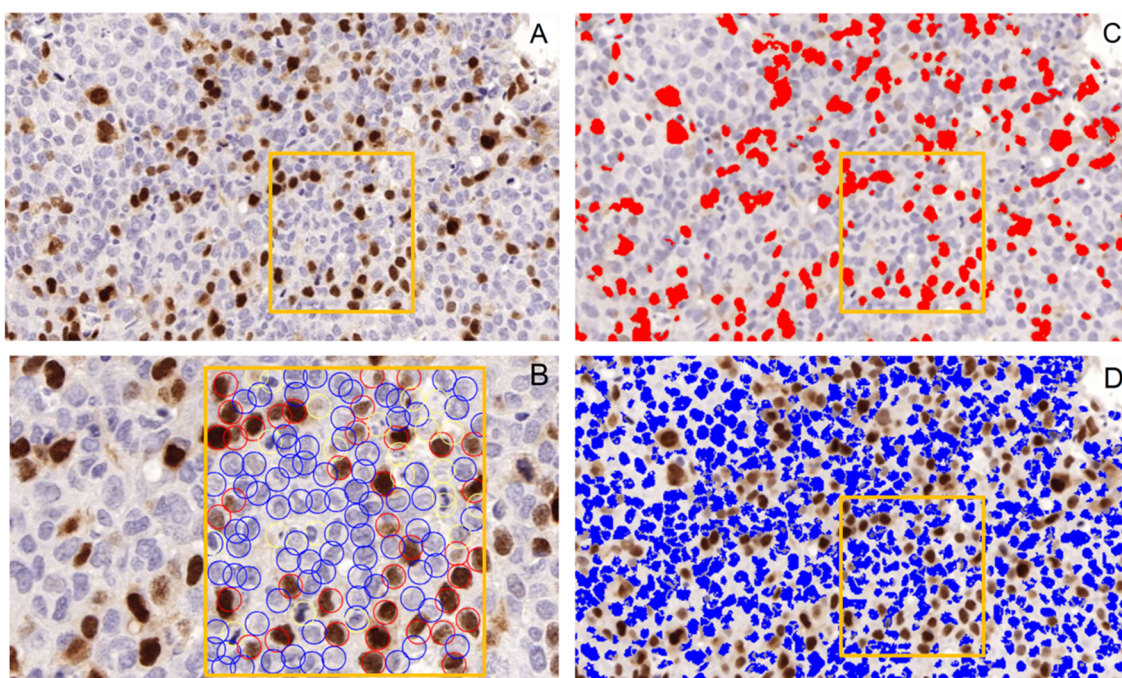
A pozitív sejtek arányát a Panoramic Viewer 1.15.3 szoftver HistoQuant 1.16.2 moduljával (3DHISTECH Kft., Budapest, Hungary), szemiautomatizált módon határoztuk meg. A vizsgálandó régiót (ROI) manuálisan, szabadkézi jelöléssel választottuk ki, olyan régiót keresve, mely tumorsejtekben gazdag, de strómális elemeket nem, vagy csak minimális mennyiségben tartalmaz. A kijelölt terület legalább 500 tumorsejtet tartalmazott (azaz legalább 10 NNL-et magában foglalt). Következő lépésként manuálisan azonosítottuk a pozitívan festődő (DAB maszk/réteg 1) és az IHC-negatív (hematoxilin maszk/réteg 2) tumorsejtek egy-egy mintapéldányát, mely alapján a program a DAB és hematoxilin festődésű tumorsejtek kijelölését automatikusan elvégezte (4. ábra).

Minden metszet esetén ún. 'Microscopic Image Segmentation Profile' (MISP) formátumban tároltuk a létrehozott szegmentációs és számolási algoritmust, az utólagos ellenőrizhetőség, illetve a reprodukálhatóság biztosítására. A CA értékelés megköveteli a rendszeres recalibrálást, illetve manuális adjusztálást is az eltérő antitestek, protokollok okozta különbségek kiegyenlítéséhez [46]. Mivel egyes minták külső intézetekből származtak, ahol nem állt módunkban a preanalitikai eljárásokat standardizálni (pl. minták fixálási protokollja eltérhetett az intézetünkben rutinszerűen

alkalmazottaktól), így a profilokat ezen metszetek esetében ellenőriztük, illetve minden antitest esetében újradefiniáltuk, hogy az esetleges festődésbeli különbségek a CA meghatározást ne befolyásolhassák.

A MISP definiálása után a pozitívan festődő és negatív sejteket tartalmazó területek arányát a szoftver automatikusan kiszámította, a pozitív terület százalékos aránya a CA festődési értéke.

A fenti módszer validálását Wienert ajánlásai alapján [198] végeztük: 1) kézzel jelöltünk minden immun pozitív és negatív tumorsejtet a vizsgált ROI területén, majd 2) összehasonlítottuk a jelölt sejteket a CA módszer által pozitívnak és negatívnak jelölt sejtekkel, így azonosítva a fals pozitívan (FP) vagy fals negatívan (FN) jelölődő tumor/stróma sejteket (4. ábra).



4. ábra. A CA analízis validálására végzett manuális jelölés reprezentatív példája. (A) saját beteganyagunkból bemutatott reprezentatív metszet, mely közepesen erős Ciklin A expressziót mutat (200x nagyítás); (B) a kézi jelölés eredménye (400x nagyítás), piros kör: IHC pozitív tumorsejtek, kék kör: IHC negatív sejtek. A sárga jelölő a CA analízissel kézi jelöléstől eltérően, fals pozitívan vagy fals negatívan jelölt sejteket mutatja (C) CA analízis eredményeképpen pozitívan festődő sejtek jelölése az 4./A ábrán bemutatott metszeten (pirosan maszkolt terület); (D) CA analízis eredményeképpen IHC negatív tumorsejtek kékkel maszkolva a 4./A ábrán bemutatott metszeten.

3.1.4. Sejtciklus markerek és a daganatok klinikopatológiai paramétereinek összefüggései

A 3.1.1. fejezetben bemutatott betegcsoportban a vizsgált markerek expresszióját a daganatok kezelésre adott válaszával, valamint a daganatok 17. táblázatban ismertetett

klínkopatológiai tulajdonságaival is összevetettük. Értékeljük továbbá a reziduális daganatok biológiai viselkedése és a sejtciklus markerek expressziója közti összefüggéseket. Ebbe az analízisbe csupán azokat a betegeket vontuk be, ahol a reziduális tumorszövet is rendelkezésre állt a kiegészítő IHC vizsgálatok elvégzéséhez.

3.1.5. Statisztikai analízis

Minden alkalmazott statisztikai próba kétoldalas volt, a tesztek eredményeit statisztikailag szignifikánsnak akkor tekintettük, amennyiben a $p < 0,05$. Az adatokat átlag \pm standard deviáció (*SD*) vagy medián (interkvartilis tartomány) formájában adtuk meg.

A CA analízis validálását kézi módszerrel végeztük. A valódi pozitív (TP), álpozitív (FP) és álnegatív (FN) sejtek száma alapján kiszámoltuk a módszer pontosságát, az F-score (azaz az F1-score) alkalmazásával, mind a DAB, mind a hematoxin pozitív tumorsejtek azonosításában [199]:

$$F\ score = 2 \times \frac{PPV \times \text{szenzitivitás}}{PPV + \text{szenzitivitás}} = \frac{2 \times TP}{2 \times TP + FP + FN}$$

Emellett CA és a kézi jelölés valamint a későbbiekben a CA és VA módszerrel kapott eredmények közti egyezést Spearman rang korrelációs analízissel (a korrelációt elenyésző ($r < 0,20$), gyenge ($r = 0,21-0,40$), közepes ($r = 0,41-0,60$), jó ($r = 0,61-0,80$), és erős ($r = 0,81-1,00$) kategóriákba soroltuk) és Bland-Altman analízis segítségével értékeltük. Az átlagos eltérés és az egyezés mértékét megállapítottuk, ehhez az eltérés mértékének normál eloszlását Kolmogorov-Smirnoff teszttel vizsgáltuk. [200-202]

A pCR és non-pCR betegcsoportok között Mann-Whitney tesztet használva értékeltük a különbséget a vizsgált markerek tekintetében, mind a CA mind VA mérések esetében. Értékeljük a CA és VA módszerrel meghatározott immun-pozitivitás jelentőségét a pCR előrejelzésében, ún. „Receiver Operating Characteristic” (ROC) analízissel [203-205]. Meghatároztuk az optimális vágópontot a pCR predikciójára, mely alapján dichotomizáltuk mind a CA mind a VA módszerrel kapott eredményeinket (magas és alacsony expressziós kategóriák mentén). 2x2 kontingencia táblákat használva vizsgáltuk a rekatégorizált, kódolt eredmények és a pCR közti összefüggést, Chi-négyzet illetve sz.e. Fisher egzakt teszt alkalmazásával. A re-kategorizált CA és VA eredmények esetében meghatároztuk, javult-e a két módszer közti diagnosztikus egyetértés, ehhez Kappa statisztikát használtunk [206].

A klinikopatológiai tulajdonságok és a sejtciklus markerek expressziójának összefüggéseit Mann-Whitney teszttel illetve Kruskal-Wallis próbával vizsgáltuk.

Az adatokat Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., Redmond Washington, USA) táblázatkezelőben rögzítettük. Statistica 64 v12 (Statsoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA), GraphPad Prism 6 Demo for Windows v6.05 (GraphPad Software Inc., San Diego, Kalifornia, USA) és SPSS v22 (IBM Software Inc., Armonk, New York, USA) szoftvereket használtunk az adatok értékeléséhez és a grafikonok elkészítéséhez.

3.2. FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében

3.2.1. Betegbeválasztás

FDG-PET/CT-vel végzett vizsgálataink során a Semmelweis Egyetem Onkológiai Részlegén (korábban a Radiológiai és Onkoterápiás Klinika Onkoterápiás Osztálya) 2008.01.01. és 2013.12.31. között, emlődaganattal diagnosztizált betegek klinikai anyagait tekintettük át, akiknél az első terápiás beavatkozásként PST-re került sor. A PST-t klinikai tumor staging (fizikális vizsgálat, mammográfia és emlő UH) előzte meg, melyet core-biopsziás mintavétel kísért. AZ FDG-PET/CT vizsgálatok ezután történtek meg. A beválasztási kritérium volt továbbá a 15 mm feletti tumorméret, hogy a résztérfogati hatás ne torzíthassa a mérést.

Vizsgálataink során a betegbeválasztási kritériumok tehát a következőképpen alakultak.

- (1) core-biopszia által igazolt, legalább 15 mm-es primer emlődaganat
- (2) első kezelésként 2008.01.01 és 2013.12.31 között PST történt
(utánkövetés vége: 2014.09.25)
- (3) staging FDG-PET/CT vizsgálat igazolta a távoli áttétek hiányát (cM0 stádium)
- (4) a terápiás válasz mérésére FDG-PET/CT vizsgálat történt az utolsó ciklus kemoterápia után
- (5) csak azon betegek kerültek beválasztásra, akik a PST-t követő műtéti ellátásba is beleegyeztek, így a műtéti szövettani rendelkezésre állt.

2008.01.01 és 2013.12.31. között 188 emlődaganatos beteg esetében volt az első választandó kezelés a PST. Ebből az interim analízis során 42 beteg adatait elemeztük, majd a vizsgálat végén 71 beteg esetében tudtuk értékelni a PET/CT hatékonyságát a válaszmérésben. A kiindulási klinikai TNM státust az AJCC klasszifikáció [48] alapján határoztuk meg, felhasználva a kiindulási fizikális vizsgálat, RTG-mammográfia és emlő-ultrahang adatait (cT-cN), kiegészítve az FDG-PET/CT vizsgálaton vagy egyéb, teljes test vizsgálaton észleltekkkel (cM0).

A Her2 overexpressziót mutató betegek esetében (n=43) alcsoport analízist végeztünk, melynek során a beválasztási kritériumok a következők voltak:

- (1) core-biopsziával igazolt primer emlődaganat
- (2) a Her2 overexpressziót immunhisztokémia igazolta, illetve szükség esetén a kiegészítő FISH vizsgálat is megtörtént
- (3) a betegek első onkológiai kezelésként PST terápiában részesültek
- (4) a staging vizsgálatok (PET/CT vagy egyéb) igazolták a távoli áttétek hiányát

- (5) a terápiás válasz mérésére staging és restaging PET/CT vizsgálat és/vagy emlőultrahang történt
- (6) csak azon betegek kerültek bevételezésre, akik a PST komplettálása után a műtéti terápiába beleegyeztek.

A betegeket két csoportra osztottuk, külön vizsgálva a PST részeként kombinált kemoterápiában részesülő Her2-t overexpresszáló emlődaganatos betegeket, akik csupán az adjuváns terápia részeként kaphattak célzott, anti-HER2 kezelést (1. kezelési csoport) és a neoadjuvánsan célzott kezelést, azaz trastuzumabot is kapó betegeket (2. csoport). Az egyidejű hormon receptor pozitivitás nem volt kizárási kritérium.

3.2.2. Hisztopatológiai analízis

A hisztopatológiai analízis a PST-t megelőző core-biopsziás mintákon és a terápiát követő műtét szövettani specimenein egyaránt megtörtént. A core-biopsziák esetében a hematoxin-eozin metszetek alapján a hisztológiai típust, nukleáris grade-et, tubulus formációt, mitózis indexet, gyulladásos és lymphoid sejtes infiltrációt, illetve az in situ komponens és a lymphovasculáris infiltráció mértékét rögzítettük.

A biológiai tulajdonságok definiálása, azaz a hormonreceptor státus, a Her2, Ki-67 LI és p53 expresszió meghatározása a core-biopsziák rutin IHC vizsgálatával történt. Az ER és PR pozitivitást 3 vagy annál magasabb Allred pontszám esetén tartottuk bizonyítottnak [9]. A Her2 overexpresszió 3+ IHC vagy 2+ után végzett FISH vizsgálat pozitivitása esetén igazolódott. Az IHC-vel Her2 1+ vagy 0 daganatokat Her2 negatívnak tekintettük. A Her2 státus meghatározásakor az ASCO/CAP guideline diagnózis idején érvényben lévő ajánlásait alkalmaztuk, azaz a 2013 novemberéig a 2007-es ajánlásokat[13], míg az ezt követő minták esetében a 2013 októberében publikált ajánlásokat használtuk [12]. A biológiai szubtypust a 13th St. Gallen Konszenzus alapján határoztuk meg, az 4. táblázatban közölt beosztás alapján [20].

A műtéti szövettan elemzése során a 2009-es Kecskeméti Konszenzus dokumentum ajánlásai szerint azonosítottuk a pCR-t elért betegeket [14]. A pCR definíciója a primer tumor tekintetében ypT0/ypTis volt, azaz a DCIS jelenléte a mintában megengedett volt[195]. Amennyiben a műtéti szövettanban reziduális daganat jelen volt, úgy a core-biopsziák esetén fent leírt elemzést a reziduális daganatszövet esetén megismételtük, illetve a reziduális daganat méretét is értékeltük. Az eltávolított nyirokcsomók (őrszem nyirokcsomó vagy blokk disszekció) esetében is vizsgáltuk az érintettséget, illetve a tumorválasz mértékét, itt a remissziót ypN0 esetén tekintettük komplettnek.[58]

A patológiai választ mind a Chevallier, mind a Sataloff beosztás szerint értékeltük [189,190]. A Ki-67 LI esetében értékeltük a proliferációs aktivitásban a terápiára bekövetkező változásokat is, alapul véve a St. Gallen konszenzus ajánlásait (20% felett tekinthető a Ki-67 LI magasnak) [20]. A következő score rendszer alapján soroltuk be a proliferációs választ:

(score 1) pCR *vagy* a terápiát követő Ki-67 LI $\leq 5\%$;

(score 2) 30%-nál nagyobb csökkenés a proliferációs aktivitásban *és* a post-terápiás Ki-67 LI 5% feletti, de $<20\%$;

(score 3) a Ki-67 LI csökkenés $\leq 30\%$, *vagy* a post-terápiás Ki-67 LI $> 20\%$ *vagy* a Ki-67 LI a kezelés hatására nem változott *vagy* $<5\%$ -ot nőtt;

(score 4) a Ki-67 LI a PST ellenére a műtéti szövettani mintában több, mint 5%-al magasabb volt a core-biopsziás értékhez képest.

3.2.3. FDG-PET/CT képalkotás és válaszmérés

A PST-t megelőző staging és az azt követő restaging FDG-PET/CT vizsgálatok teljes test-kamerákkal készültek 2 központban (Siemens Biograph TruePoint 6 HD PET/CT, Siemens Molecular Imaging Division, Knoxville, TN, USA és GE Discovery ST 8 PET/CT, GE Medical Systems, Waukesha, WI, USA), követve az adott vizsgálat idején érvényes standard protokollokat és nemzetközi ajánlásokat [104,110,114,117]. Állapotfelmérés után (anamnézis, vércukorszint, testsúly, testmagasság) a testtömegtől függően a rutin mennyiségű FDG (5-10 mCi \sim 185-370 MBq) intravénásan került beadásra. A betegek közül a cukorbetegségben is szenvedők a vizsgálat előtt legalább 4 órával, a többiek legalább 6 órával már nem étkezhetek. A radiofarmakon injektálása előtt a vércukorszintet ujjbegyből mérve meghatároztuk, mely minden alanynál 7,8 mmol/l alatt volt. A vizsgálatok egy \sim 60 perces nyugalmi periódus után történtek. Minden beteg esetében a terápia előtti és utáni vizsgálatokat ugyanazzal a berendezéssel és beállításokkal végeztük. A leképezés ideje alatt a betegek szabadon lélegezhetek. A beteg a berendezés vizsgáló asztalán, háton fekvé, fej fölé emelt karral helyezkedett el. A teljes test low dose, natív CT után, mely fél-1 percet vesz igénybe, következett a PET vizsgálat, összességében 15-40 perc alatt megtörtént a teljes test leképezés (a tragus szintjétől a combok felső harmadáig). 3D módú gyűjtéssel egésztest PET felvételeket készítettünk, melyet natív, alacsony dóziszú CT felvételekkel egészítettünk ki. A PET felvételek rekonstrukcióját OSEM algoritmussal végeztük (4 iteráció/8 subset).

A PET/CT vizsgálatok kiértékelését minden esetben ugyanazon szoftverrel és munkaállomáson végeztük. A fokális FDG-felvétel növekedést akkor tekintettük pozitívnak, amennyiben az a háttéraktivitás szintjét meghaladta. A háttéraktivitást a mediasztinum területén, a leszálló aortában mértük, a PERCIST kritériumoknak megfelelően[117]. A fúzionált PET/CT felvételeken ROI-k manuális kijelölésével mértük a SUVmax értékét a primer tumor, illetve az axilláris nyirokcsomó régió területén a terápia előtti, kiindulási (SUVmax1), illetve a preoperatív vizsgálatokon (SUVmax2). Amennyiben a tumor komplett remissziót mutatott a kezelés hatására, úgy a poszt-terápiás vizsgálatok esetén a ROI-t a kiindulási mérés esetén definiált eredeti pozícióba helyeztük fel. Minden beteg esetében meghatároztuk a SUVmax1 és SUVmax2 értékek különbsége alapján a Δ SUV értékét, mind a primer tumor, mind az axilláris régió területén. A betegek testtömege a vizsgálat idején stabil volt (az átlagos ingadozás 0.78 kg volt). A vizsgálatból kizártuk azon betegeket (n=3), akik a PST kezelés alatt testtömegük, több mint 10%-át elvesztették [117].

Ezt követően az interim analízis részeként (n=42) elvégeztük a PERCIST [117], illetve korábban érvényes EORTC ajánlások [174] alapján a tumorválasz értékelését. Mivel a betegek esetében nem állt rendelkezése egységesen a tumorméret meghatározására alkalmas egyéb modalitás a fizikális vizsgálaton kívül (restaging mammográfia és emlőultrahang sok esetben interim jelleggel történt), így a posztterápiás PET/CT során végzett natív CT-n rögzítettük a morfológiai választ a RECIST 1.1 kritériumok [173] és a korábbiakban érvényes WHO kritériumok [170] szerint is. Amennyiben a morfometria denz emlőszerkezet miatt nehezített volt (n=4), a PET-en definiált FDG-avid léziók segítségével különítettük el a daganatszövetet a környező normál emlő szövetektől. Utóbbi négy esetben, szükség esetén a vizsgáló a konvencionális képalkotó modalitások eredményeit (amennyiben rendelkezésre álltak) áttekinthette a reziduális daganat pontosabb lokalizációját segítő. Egyébiránt a vizsgálatok leletezése a klinikopatológiai adatokra vakon történt.

Az adatgyűjtés befejezése és az interim analízis elvégzése után két további módszert alkalmaztunk a tumorválasz mérésére:

- (1) *PET/CT Módszer 1*, avagy egyszerűsített PERCIST-alapú válaszmérés: a komplett remisszió PERCIST alapú definícióját használjuk a PET/CT értékelése során, vagyis akkor tekintjük a tumorválaszt teljesnek, ha a cél-lézió FDG-felvétele megszűnik (\leq a háttér vérpool vagy májaktivitás szintjénél), és minden további, nem cél-lézió is a háttéraktivitásnál kisebb FDG-aviditást mutat; valamint

nem jelent meg új, daganatra specifikus FDG-felvételt mutató lézió. (A RECIST szerinti tumorválaszt a PERCIST során csak progresszió esetén kell figyelembe venni, ld. 13. táblázat) [117]. A fenti definíció alapján a vizsgált betegeket kettéosztottuk komplett remissziót elért ($CR_{\text{módszer1}}$) és azt el nem ért ($non-CR_{\text{módszer1}}$: PERCIST szerinti PR, SD vagy PD) betegcsoportokra.

(2) *PET/CT Módszer 2.*, azaz kombinált válaszmérés: egy második, újszerű megközelítést is alkalmaztunk a válaszmérésre, felhasználva a PERCIST mellett minden esetben elvégzett RECIST értékelés eredményeit. Amennyiben a RECIST alapján a daganat a kiinduláskor nem bizonyult mérhetőnek [173], a beteget kizártuk vizsgálat e részéből. A második módszer szerint definiált komplett remisszió ($CR_{\text{módszer2}}$) betegcsoportba csak azon betegek kerültek, akiknél mind a PERCIST szerint, mind a RECIST szerint komplett klinikai remissziót detektáltunk, mind a primer tumor mind az axilláris nyirokcsomó régió esetében. Ha bármely kritérium reziduális daganatot talált, a tumorválasz nem lehetett komplett remisszióként értékelhető (a beteg a $non-CR_{\text{módszer2}}$ betegcsoportba sorolódott).

Elsőként egy, a biológiai szubtypus szempontjából homogén, Her2 overexpresszáló betegcsoportban (n=43) vizsgáltuk az új módszerek hatékonyságát, összevetve a konvencionális képalkotás hatékonyságával, majd vizsgálatunkat kiterjesztettük a teljes, PET/CT-vel utánkövetett, PST kezelésben részesült betegcsoportra (n=71).

3.2.4. Ultrahang vizsgálatok

A PST kezelésen átesett betegek közül a Her2 overexpresszáló daganatok esetében azon betegeket vontuk be a vizsgálatba, akiknél a terápiás válasz mérésére PET/CT és emlőultrahang, de legalább az egyik vizsgálat megtörtént. Ebben a betegcsoportban ugyanis értékeltük a konvencionális képalkotás pontosságát is a terápiás válasz mérésében. A vizsgálatba bevásztott betegek esetében a kezelést megelőző és azt követő emlő ultrahang vizsgálatok ugyanazzal a készülékkel történtek (Esaote MyLAB 25, Esaote North America, Indianapolis, IN, USA illetve Philips HD 15, Philips Healthcare, Andover, MA, USA) két, emlődiagnosztikában jártas radiológus bevonásával. Minden beteg esetében ugyanaz a vizsgáló végezte a kezelés előtti és az azt követő ultrahangot, hogy az inter-obszerver variabilitást csökkentsük. Egyéb esetben az eredményt a vizsgálatból kizártuk. A tumorválasz tekintetében komplett remissziót

akkor definiáltunk, amennyiben az utolsó ciklus PST után a korábbi tumor helyén semmilyen reziduális, ultrahanggal detektálható elváltozást nem talált a vizsgáló.

3.2.5. Statisztikai analízis

Minden alkalmazott statisztikai próba kétoldalas volt, a tesztek eredményeit $p < 0,05$ -nél tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Az adatokat átlag \pm standard deviáció (*SD*) vagy medián (interkvartilis tartomány) formájában adtuk meg.

Az interim analízis során páros t-próbát vagy, amennyiben a minta nem normál eloszlásúnak bizonyult, Wilcoxon sign-rank tesztet végeztünk a kezelés előtti és utáni paraméterek összehasonlítására. A betegeket a patológiai válasz szempontjából pCR-t elért és non-pCR (pCR-t el nem ért) betegcsoportra osztottuk. A két csoportot t-próba, vagy Mann-Whitney teszt (amennyiben a minta nem normál eloszlásúnak bizonyult) segítségével hasonlítottuk össze. ROC analízist végeztünk, hogy feltárjuk, a tumorválasz mely aspektusa írja le legjobban a pCR-t. Spearman rang-korrelációs analízist végeztünk a kritériumrendszerek közötti összefüggések feltárására.

A két újszerű módszerünk (PET/CT Módszer 1 és 2) alapján besorolt tumorválaszt összevetettük a patológiai válasszal, mind a Her2, mind a teljes betegcsoport esetén. A binomiális kategorikus változók (CR/non-CR vs. pCR/non-pCR) analízisére Fisher egzakt tesztet alkalmaztunk. A diagnosztikus hatékonyság értékelésére meghatároztuk a módszerek szenzitivitását, specificitását, pozitív (PPV) és negatív prediktív értékét (NPV), valamint a pontosságot. Összevetettük a patológiai és PET/CT-vel mért valamint a Her2 overexpresszáló betegcsoportban az emlő-UH alapján definiált tumorválaszt a különböző biológiai szubtípusok előfordulásával, erre a vizsgált változó típusától (folyamatos/kategorikus) és a tesztelt hipotézistől (két/több változó összevetése) függően Mann-Whitney, Kruskal Wallis és Chi-négyzet tesztet alkalmaztunk.

Az adatokat Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., Redmond Washington, USA) táblázatkezelőben rögzítettük. Statistica 64 11 (Statsoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA) és SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., San Jose, California, USA), valamint a MedCalc 13.2.2 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium) szoftvereket használtunk az adatok értékeléséhez.

3.3. Dinamikus PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése

3.3.1. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok emlődaganatos betegek esetében

A dinamikus PET/CT vizsgálatok esetén a beválasztást prospektív jelleggel végeztük, a beválasztási kritériumok a következőképpen alakultak:

- (a) core-biopsziás mintavétellel, szövettanilag igazolt primer emlődaganat;
- (b) a daganat legalább 20 mm-es;
- (c) performansz státus: ECOG 0 vagy 1, és az életkor > 18 év;
- (d) a beteg által saját kezűleg aláírt és dátummal ellátott beleegyező nyilatkozat.

Emellett az alábbi kizárási kritériumokat alkalmaztuk:

- (a) metasztatikus betegség;
- (b) megelőző kemoterápiás kezelés;
- (c) terhes, vagy jelenleg szoptató beteg;
- (d) a következő hisztológiai tumor típusok: lobularis carcinoma, mucinosus carcinoma, vagy gyulladáisos emlőrák;
- (e) A PET/CT vizsgálatok tekintetében a kizárási kritériumok kiegészültek
 - i) kooperációra képtelen, vagy klausztofóbiás beteg,
 - ii) a beteg képtelen 60 percet a vizsgálóágyon mozdulatlanul fekvéni,
 - iii) nem lehetséges a radiofarmakon kellően gyors intravénás beadása, illetve az ehhez szükséges vénabiztosítás.

Minden dinamikus PET/CT vizsgálatot Siemens Biograph TruePoint 6 HD (Siemens Molecular Imaging Division, Knoxville, TN, USA) készüléken végeztünk. A vizsgálatokat min. 6 órás éhezés előzte meg. A vércukorszint, testtömeg és testmagasság a radiofarmakon beadása előtt rögzítésre került. A betegek a rutin vizsgálatokra jellemző dózisban kapták meg az FDG-t (3,7 MBq/ttkg). A tracer intravénás beadása a vizsgálóasztalon történt meg (0. perc). A dinamikus leképezés 60 percig tartott a PET/CT vizsgálóasztalán mindvégig mozdulatlanul fekvő beteg esetében. A PET adatgyűjtés folyamatosan történt (ún. „list mode”) rögzített ágypozíció mellett, melynek során a tumor területén halmozódó radiotracer aktivitás-koncentrációját regisztráltuk. A képrekonstrukcióhoz alkalmazott időablakok: első 8 időszlet (frame) esetén 15 másodperc, majd a 9-16. frame esetén 30 másodperc, 17-18. frame: 1 perc; 19-21. frame: 2 perc, 22-25. frame: 3 perc, 26. frame: 4 perc és végül 27-32. frame: 5 perc.

A rutin, statikus teljes-test leképezés is megtörtént (koponya-bázistól a combközépig) minden vizsgált beteg esetében, közvetlenül a dinamikus adatgyűjtés után. A statikus vizsgálatok kiértékelése során Siemens Syngo (Siemens Molecular Imaging Division, Knoxville, TN, USA) munkaállomások segítségével rögzítettük a rutin paramétereket (mint pl. a SUVmax) a tumor területén kijelölt ROI alapján.

A dinamikus vizsgálatokat a PMOD szoftver (v3.310, Zürich, Svájc) segítségével értékeltük. A bemenő idő-aktivitás görbék (TAC) generálásához a primer tumor és a bal kamra (vér-pool) területén kijelölt 1,5 cm átmérőjű gömb VOI-t alkalmaztunk. Hogy kiküszöböljük a mozgási műtermékeket a VOI-k helyzetét minden időszeleten (frame) manuálisan (VOI₁) illetve szemiautomatikus módon (VOI₂) korrigáltuk. Utóbbi esetben első lépésben a tumor méretét legalább 10 mm-el meghaladó átmérőjű VOI-t helyeztünk a vizsgált régióba, melyet a maximális voxelre centráltunk, ezt követően a VOI átmérőjét 15 mm-re igazítottuk.

A TAC-ok felhasználásával a PMOD szoftver ún. FDG-eloszlásra vonatkozó kétkompartmentes modelljét kiválasztva meghatároztuk a kívánt kinetikai paramétereket (K₁, k₂, k₃, K_i). Mivel nem ismerjük az emlőszövetben az FDG és glükóz metabolikus rátája közti kapcsolat egzakt LC-jét, így az $MRFDG = C_{glc} \times K_i$ egyenletet alkalmaztuk az FDG-metabolikus rátáját leírására az adott szövetben ($\mu\text{mol}/\text{min}/100 \text{ g szövet}$). [207].

A dinamikus PET/CT vizsgálatokon átesett betegek core-biopsziás szövettani blokkjain a 3.1. vizsgálatnál részletezett immuhisztokémiai módszerekkel, a tumorproliferáció és a sejtciklus pontosabb értékelésére elvégeztük az MCM2, Ciklin A és PHH3 expresszió meghatározását a Ki-67 LI mérése mellett.

3.3.2. Az FDG-PET/CT hatékonysága a PST során a korai tumorválasz mérésében

A 3.2. vizsgálatban bemutatott betegek közül kiválasztottuk azokat, akik esetében terápiaközi, ún. interim PET/CT vizsgálat történt az első vagy második PST ciklus után. Az interim vizsgálatokat a 3.2.3. fejezetben leírt protokollok szerint végeztük, kiegészítve azzal, hogy az interim vizsgálat a megelőző kemoterápiás ciklus után minimum 2 héttel történhetett meg (de természetesen még a következő terápiás ciklus előtt). A vizsgálat indikációját onkológiai szakcsoport határozta meg.

A PET/CT vizsgálatok értékelését a 3.2. vizsgálatnál leírt módszertan szerint végeztük. Az értékeléskor a terápia okozta fokozott csontvelői aktivitást, illetve egyéb FDG-felvételben bekövetkező fiziológiásnak tekinthető változásokat figyelembe

vettük.[107] A fúzionált PET/CT felvételeken ROI-k manuális kijelölésével mértük a SUVmax értékét a primer tumor, illetve az axilláris nyirokcsomó régió területén a terápia előtti, kiindulási (SUVmax1), az interim (SUVmax2) és a preoperatív felvételeken (SUVmax3). Amennyiben a tumor komplett remissziót mutatott a kezelés hatására, úgy a poszt-terápiás vizsgálatok esetén a ROI-t a kiindulási vizsgálaton definiált eredeti pozícióba helyeztük. Meghatároztuk a SUVmax1 és SUVmax2, valamint a SUVmax1 és SUVmax3 értékek különbsége alapján a Δ SUV értékeket, mind a primer tumor, mind az axilláris régió területén. A tumorválaszt mind az interim, mind a restaging vizsgálatok esetén PERCIST [117] és RECIST [173] szerint is értékeltük.

Az interim PET/CT vizsgálatokon átesett betegek core-biopsziás szövettani blokkjain a 3.1. vizsgálatnál részletezett immuohisztokémiai módszerekkel, a tumorproliferáció és a sejtciklus pontosabb értékelésére elvégeztük az MCM2, Ciklin A és PHH3 expresszió meghatározását a Ki-67 index mérése mellett. Az eredményeket összevetettük az terápia megkezdése előtt végzett immuohisztokémiai vizsgálatok eredményeivel.

3.4. Etikai engedélyek

A vizsgálatainkat a Semmelweis Egyetem Regionális és Intézményi Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta. Minden beteg írásos beleegyezését adta klinikai kezelése során adatainak kutatási célokra történő felhasználásához. Az FDG-PET/CT vizsgálatokat megelőzően minden beteg írásos beleegyezését adta a vizsgálatok elvégzéséhez, s a képanyag kutatási célokra történő felhasználásához.

Az etikai engedélyek száma és címe a következő:

- SE TUKEB 76/2007. *„Primer szisztémás chemoterápia patológiai és molekuláris patológiai vonatkozásainak vizsgálata emlőcarcinomákban”*
- SE TUKEB 120/2013. *„A molekuláris képkalkotás és a patológiai ismeretek szerepe a terápiás válasz mérésében és annak előrejelzése során”*
- SE TUKEB 119/2013. *„Korai terápiás válasz mérése emlődaganatos betegek primer szisztémás terápiája során dinamikus FDG-PET/CT segítségével”*

4. Eredmények

4.1. Tumorprolifерáció, mint prediktív marker a PST során

Összesen 57 emlődaganatos beteget választottunk be vizsgálatunkba, az átlagéletkor $48,98 \pm 10,68$ év volt (17. táblázat). A grade 3 (36/57; 63,1%), invazív duktális emlődaganat (50/57; 87,7%) dominált a betegcsoportban. Minden beválasztott beteg PST kezelésen esett át, főként taxán-bázisú kezeléseket alkalmaztunk, anthraciklinekkel vagy platinával kombinációban. A PST kezelés után minden beteg beleegyezését adta a sebészeti ellátáshoz.

17. táblázat. A daganatok klinikopatológiai tulajdonságai (n=57)

Jellemző	No.	%
Klinikai T stádium		
T1c	6	10.5
T2	42	73.7
T3	6	10.5
T4	3	5.3
Klinikai N stádium		
N0	20	35.1
N1	24	42.1
N2	6	10.5
N3	7	12.3
Hisztológia		
Invasiv ductalis carcinoma	50	87.7
Egyéb	7	12.3
Grade		
1	1	1.8
2	20	35.1
3	36	63.1
Biológiai szubttípus[†]		
Luminális A	7	12.3
Luminális B/proliferatív	13	22.8
Luminális B/Her2-pozitív	17	29.8
Her2-pozitív	7	12.3
Tripla negatív	13	22.8
Alkalmazott kezelés		
Taxán-anthraciklin kombináció	16	28.1
Taxán-platina kombináció	18	31.6
Trasztuzumab-alapú kombináció	14	24.5
Egyéb kombináció	9	15.8
Műtéti terápia		
Mastectomia	39	68.4
Emlőmegtartó műtét	18	31.6
Axilláris blokk disszekció	48	84.2
Őrszem nyirokcsomó bióptálás	9	15.8

4.1.1. A computer-asszisztált analízis validálása

A vizsgált metszeteken átlagosan 1024,3 sejtet jelöltünk kézi módszerrel. A kézi jelölés és a CA módszer eredményét (a százalékos festődés mértékét) összevetettük, definiáltuk az F-score-t és vizsgáltuk a diagnosztikus egyetértést (18. táblázat).

18. táblázat A CA analízis validálása. F-próba a pozitív (+) és negatív (-) sejtek azonosítására és Spearman korreláció, majd Bland-Altman analízis a diagnosztikus egyetértés értékelésére

Marker [#]		F-próba			Diagnosztikus egyetértés			
		F-score* (%)	Fals pozitív† (%)	Fals negatív† (%)	Spearman r és p-érték	Átlagos eltérés (SD)	95% LoA / alsó	95% LoA / felső
Ki-67	+	96.68	5.42	0.46	0.976 p<0.0001	-0.16 (5.534)	-11.01	10.69
	-	91.98	11.39	1.45				
MCM2	+	96.06	6.54	0.98	0.991 p<0.0001	-1.47 (2,318)	-6.013	3.073
	-	89.19	16.63	2.53				
Ciklin A	+	95.68	6.48	1.92	0.987 p<0.0001	0.258 (1,854)	-3.376	3.892
	-	97.00	4.55	0.90				
PHH3	+	93.94	13.04	0.00	0.923 p<0.0001	0.707 (1,651)	-2.528	3.942
	-	97.57	4.89	0.07				

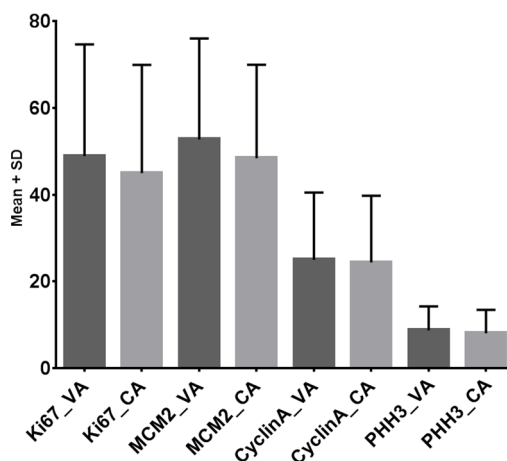
külön szemléltetjük az immun pozitív (+) és negatív (-) sejtek esetén a CA kézi validálásának eredményét
* az immun-pozitivitás F-próbájának átlaga † az összes jelölt sejt arányában; LoA: level of agreement

Kiváló egyezést találtunk a kézi jelölés és a CA eredményei között. A CA módszer pontosan azonosította az immun pozitív sejteket mind a négy marker esetén. A Ki-67 és az MCM2 esetén a CA analízis a kézi validáláshoz képest mindössze 0,16%-al illetve 1,47%-al alacsonyabb festődési indexeket detektált. A CA a Ciklin A esetén 0,26%-al, a PHH3 esetén 0,71%-al detektált magasabb festődési arányt, mint a kézi validálás. A IHC pozitivitás azonosítása tekintetében a fals pozitivitás aránya a PHH3 esetén nagyobb volt, mint a Ki-67, MCM2 vagy a Ciklin A esetén. Az IHC negatív sejteket viszont a Ciklin A és a PHH3 markerek esetén pontosabban azonosította a CA módszer (4,55% és 4,89%), a fals pozitivitás arány itt alacsonyabb volt, mint a Ki-67 (11,39%) és az MCM2 (16,63%) esetén, ahol a módszer a strómális elemeket és lymphocytákat több esetben, pontatlanul, IHC negatív tumorsejtként jelölte. Összefoglalva, a vizsgált CA módszer gyors és praktikus, a kézi jelölésnél egyszerűbben alkalmazható, de azzal egyenértékű eredményt szolgáltat, amennyiben a vizsgált ROI-ban a strómális elemek

aránya alacsony. A kézi jelöléssel validált CA analízis eredményeit tovább vizsgáltuk, összehasonlítva a rutinszerű VA eredményeivel.

4.1.2. A computer-asszisztált és vizuális analízis különbségei

A CA analízis eredménye minden marker esetén alacsonyabbnak bizonyult a VA alapján mért expresszióknál (5. ábra).



5. ábra. A core-biopsziás minták esetén CA és VA módszerrel detektált átlagos expresszió mértéke a vizsgált sejtciklus markerek esetében.

A CA és VA eredmények között kifejezetten erős, szignifikáns korrelációt találtunk Spearman-féle rang korrelációs analízissel (19. táblázat). Bland-Altman analízist alkalmaztunk a két módszerrel mért expressziós szintek különbségeinek értékelésére. Az eredményeket Bland-Altman grafikonokon ábráztuk (6. ábra A-D).

19. táblázat. A CA és VA eredmények közti eltérés a Ki-67, MCM2, Ciklin A és PHH3 markerek esetén. A Spearman korreláció és Bland-Altman analízis eredményei.

	CA átlag (SD)	VA átlag (SD)	Spearman r és p-érték	Átlagos eltérés CA-VA (SD)	95% LoA / alsó	95% LoA / felső	Nagyságrenddel mutatott összefüggés
Ki-67	44.95 (24.9)	48.89 (25.7)	0.9726 p<0.0001	-3.939 (6.125)	-15.94	8.065	NS (p=0.323)
MCM2	48.39 (21.5)	52.72 (23.3)	0.9642 p<0.0001	-4.323 (5.915)	-15.92	7.271	p=0.0264
Ciklin A	24.39 (15.3)	24.98 (15.5)	0.9593 p<0.0001	-0,586 (3.71)	-7.857	6.685	NS (p=0.802)
PHH3	8.04 (5.4)	8.70 (5.5)	0.9017 p<0.0001	-0.666 (2.107)	-4.796	3.464	NS (p=0.641)

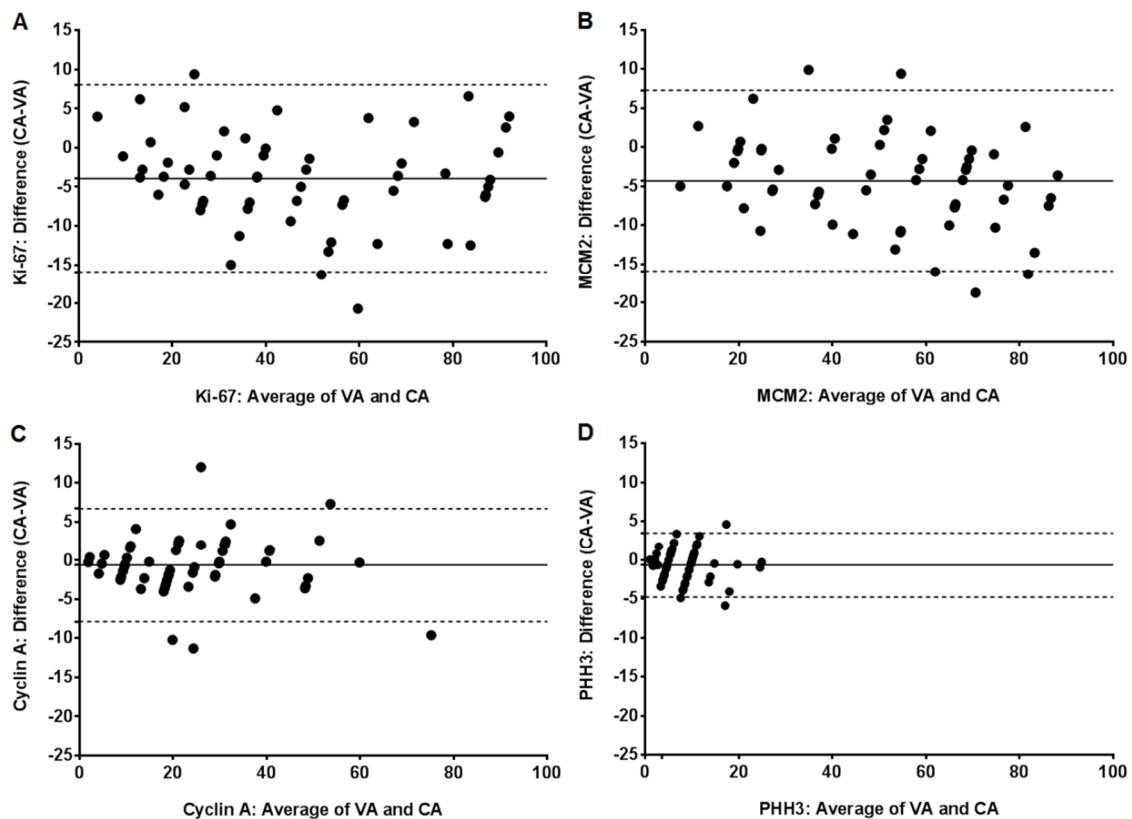
Rövidítések: SD: standard deviáció, 95% LoA: 95% level of agreement; NS: nem-szignifikáns.

A Ki-67 esetében az átlagos eltérés a CA és VA módszerrel mért expresszió között alacsony volt (a CA eredményei átlagosan 3,94%-a voltak alacsonyabban a VA-el mértéknél), ám a 95%-os egyezés (LoA) viszonylag széles intervallumban mozgott (-

15,94 és +8,06% között) (6./A ábra). A két mérés tehát nem mutatott konzisztensen egyező eredményt, az eltérés szignifikáns (de az átlagos eltérés a mintában kiegyensúlyozott volt, az expresszió növekedésével nem mutatott összefüggést).

Az MCM2-t tekintve a CA eredmények átlagosan 4,32%-al voltak alacsonyabbak a VA-el mértnél (6./B ábra). Emellett az eltérés összefüggött az expresszió nagyságrendjével ($p=0,0264$): amennyiben a mintában az IHC pozitív sejtek száma magasabb volt (tehát magas MCM2 expresszió esetén) a CA és VA közti különbség is magasabbnak bizonyult, a 4,32%-ot konzekvensen meghaladta.

A Ciklin A esetében a detektált különbség a két módszer között nem volt szignifikáns (átlagos eltérés: -0,59%) (6./C ábra). Hasonló eredményt találtunk a PHH3 esetében, ahol az átlagos eltérés mindössze -0,66%-os volt (6./D ábra). Az átlagos eltérés mindkét marker esetén kiegyensúlyozott volt a mintában, nem függött a marker expresszió nagyságától. A Ciklin A és PHH3 esetében a CA és VA módszer egyaránt kiválóan alkalmasnak bizonyult az expresszió értékelésére.

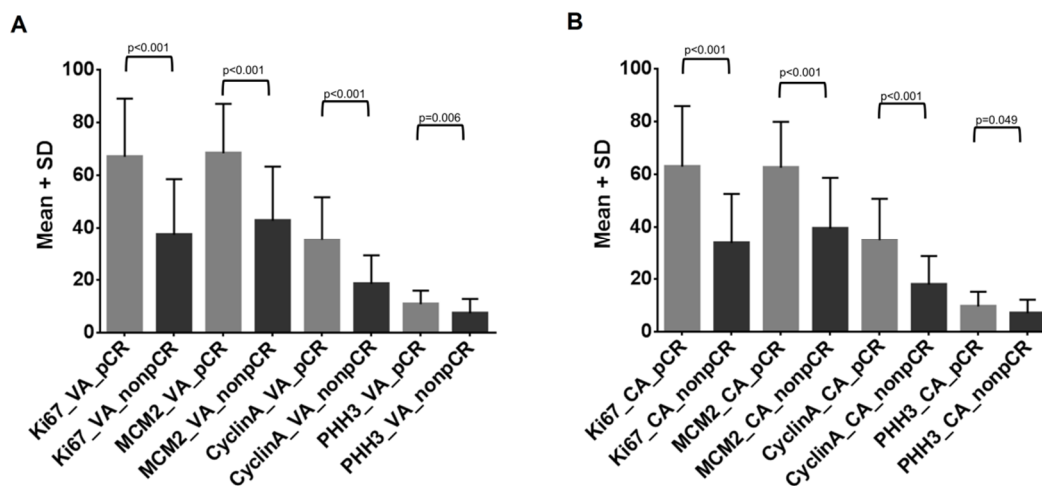


6. ábra. A diagnosztikus egyetértés Bland-Altman próbája a computer asszisztált (CA) és vizuális analízis (VA) összehasonlításában. A Ki-67(A) MCM2 (B) Ciklin A (C) és PHH3 (D) CA és VA értékelésének eltéréseit Bland-Altman grafikonon szemléltetjük. *Jelmagyarázat:* ordináta: a CA és VA különbsége; abszcissza: a CA és VA mérés átlaga; a koordinátarendszerben: egyenes vonal: átlagos eltérés; szaggatott vonal: 95%-os egyezés felső és alsó szintje

4.1.3. A pCR és non-pCR betegcsoport elkülönítése, optimális vágópontok analízise

22 beteg ért el pCR-t (38,6%), és 35 esetben reziduális daganatot találtunk (non-pCR ráta: 61,4%). A két betegcsoportot Mann-Whitney teszttel hasonlítottuk össze minden vizsgált sejtciklus marker tekintetében. A VA módszert tekintve szignifikáns különbséget találtunk a pCR és non-pCR betegcsoport között a Ki-67 ($p=0,000013$), az MCM2 ($p=0,000022$), a Ciklin A ($p=0,000042$) és a PHH3 ($p=0,006294$) expressziójában is (7./A ábra). A CA értékelés hasonló eredményt adott mind a négy marker esetében (Ki-67: $p=0,000007$; MCM2: $p=0,000059$; Ciklin A: $p=0,000039$ és PHH3: $p=0,049564$) (7./B ábra).

A PHH3 index (a PHH3 pozitív sejtek száma 10>NNL-ben) pontosabban különítette el a pCR vs. non-pCR csoportokat, ($p=0,0038$) mint a PHH3 százalékos expressziója, függetlenül attól, hogy CA vagy VA módszerrel értékeltük a festődést.



7. ábra A pCR és non-pCR betegcsoportok közti különbségek a VA (A) és a CA (B) módszerekkel meghatározott 4 sejtciklus marker esetében.

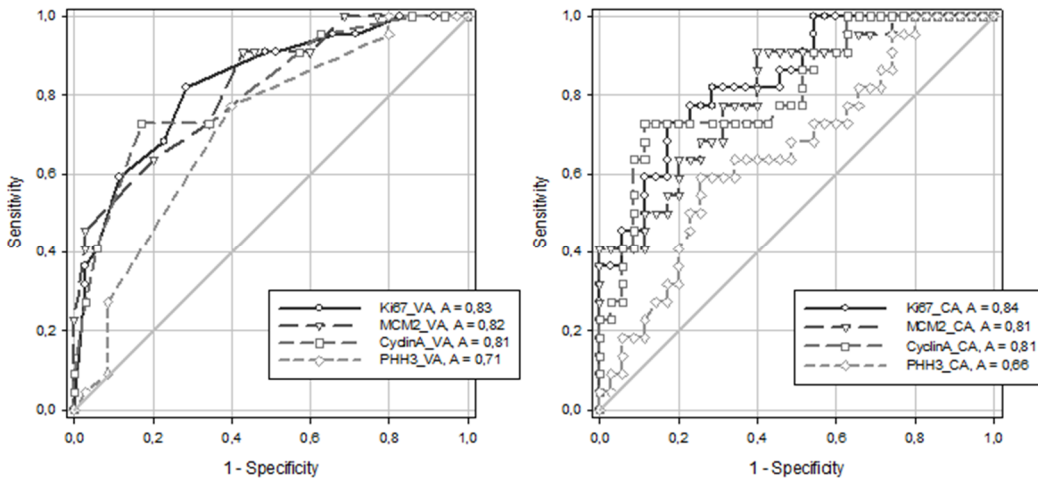
A sejt-ciklus markerei szignifikáns prediktornak bizonyultak a pCR előrejelzésére ($p<0,05$), kivéve a PHH3 CA módszerrel mért értékét ($p=0,1004$) (20./A táblázat).

Következő lépésként ROC-analízist végeztünk, hogy meghatározzuk az optimális vágópontokat a pCR előrejelzésére, minden markernél, mind a VA (8./A ábra) mind a CA módszerrel (8./B ábra) végzett analízis eredményeinek esetében.

A VA módszernél az optimális vágópont Ki-67 esetében 45% (a vágópont szenzitivitása (sens): 81,8%, specificitása (spec): 71,4%), MCM2-nél 47,5% (sens: 90,9%; spec: 57,1%), Ciklin A-nál 27,5% (sens: 72,7%; spec: 82,9%) míg PHH3-nál 7,5% (sens: 77,3%; spec: 60,0%) volt. A CA értékelés esetében a következő vágópontokat találtuk (zárójelben a szenzitivitás és specificitás értékeivel): Ki-67:

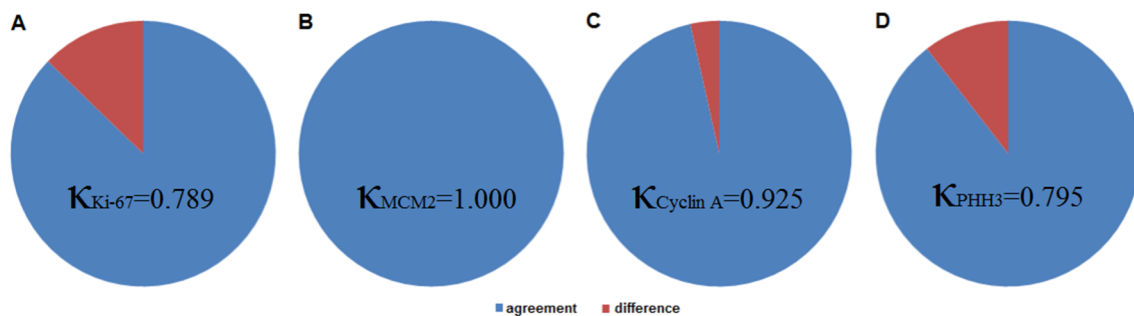
47,5% (sens: 73,7%; spec: 82,9%), MCM2: 42,8% (sens: 90,9%; spec: 60,0%), Ciklin A: 28,8% (sens: 72,2%; spec: 88,6%) és PHH3: 8,7% (sens: 59,1%; spec: 74,3%).

Meghatároztuk a PHH3 index prediktív vágópontját is, mely >36 mitosis/10 NNL-nek adódott (szenszitivitása 81,8%, specificitása 60,0%). Ez utóbbinál a görbe alatti területet magasabbnak bizonyult (AUC=0,73), mint ami a PHH3 VA (AUC=0,71) és CA meghatározásánál (AUC=0,66) adódott.



8. ábra. ROC analízis: a 4 sejtciklus marker hatékonysága a pCR előrejelzésében. A VA és CA módszerekkel meghatározott eredményeket az ábra (A) és (B) részén mutattuk be. Rövidítések: A=Area under the curve, görbe alatti terület

Minden marker esetében az optimális vágópontok alapján ‘magas’ és ‘alacsony’ expressziós kategóriákat definiáltunk, a vágópont feletti és alatti értékeket e kategóriákba soroltuk. Ez alapján dichotomizáltuk mind CA és VA analízissel meghatározott eredményeket, és megismételtük a diagnosztikus egyetértés vizsgálatát Kappa-statisztika segítségével (9. ábra).



9. ábra Diagnosztikus egyetértés a VA és CA értékek között Ki-67 (A), MCM2 (B), Ciklin A (C) és PHH3 (D) esetén, az optimális vágópont utáni dichotomizálás alapján. A kördiagramokban a kék szín az egyező, a piros szelet az eltérés arányait jelenti. κ : Kappa értéke szerepel.

Az MCM2 esetén az új, re-kategorizált VA és CA eredmények teljes egyezést mutattak ($\kappa=1$, $p<0,000$). A Ciklin A esetén kiváló egyezést találtunk a CA és VA eredmények között ($\kappa=0,925$; $p<0,000$). A Ki-67 és a PHH3 esetén gyengébb, de továbbra is jó egyezést detektáltunk (Ki-67: $\kappa=0,789$, $p<0,000$; PHH3: $\kappa=0,795$, $p<0,000$).

Az optimális vágópont alapján végzett reklasszifikáció nem csupán a diagnosztikus egyetértést, de a pCR predikcióját is javította az elvégzett Chi-négyzet próbák alapján (20./B táblázat). Kiemelendő, hogy a PHH3 CA módszerekkel végzett értékelése is a pCR szignifikáns prediktorának bizonyult, amennyiben a rekatégorizálást a vágópont alapján elvégeztük, szemben a folyamatos változóval kapott eredményekkel.

20. táblázat. A sejtciklus markerek prediktív értéke a pCR-re. (A) A CA és VA analízis nyers, százalékos expressziót leíró eredményei alapján végzett egyváltozós logisztikus regresszió. **(B)** A ROC-alapú optimális vágópontok szerint kategorikussá tett CA és VA értékek prediktív értéke a pCR-re (Chi négyzet próba alapján).

		A			B	
		p-value	OR	95% CI	χ^2	p-value
Ki-67	VA	0.0002	1.059	1.027-1.091	15.32	<0.0001
	CA	0.0001	1.062	1.03-1.094	17.61	<0.0001
MCM2	VA	0.0003	1.065	1.029-1.109	13.16	0.0003
	CA	0.0005	1.068	1.029-1.109	13.16	0.0003
Ciklin A	VA	0.0008	1.105	1.043-1.173	17.61	0.0003
	CA	0.0005	1.102	1.043-1.164	22.28	<0.0001
PHH3	VA	0.0341	1.129	1.009-1.262	7.565	0.005
	CA	0.1004	-	-	8.607	0.0034
PHH3 index	VA	0.0095	1.052	1.013-1.093	9.594	0.0015
	CA	-	-	-	-	-

Rövidítések: OR: odds ratio; 95% CI: 95% konfidencia intervallum; χ^2 : Chi négyzet

4.1.4. Sejtciklus markerek és a klinikopatológiai paraméterek összefüggései

52 beteg esetében összehasonlítottuk a vizsgált markerek expresszióját nem csupán a daganatok kezelésre adott válaszával, de azok 17. táblázatban szereplő klinikopatológiai tulajdonságaival is. 5 esetben nem állt módunkban kiegészítő IHC vizsgálatokat végezni a műtéti szövettani készítményeken (21. táblázat)

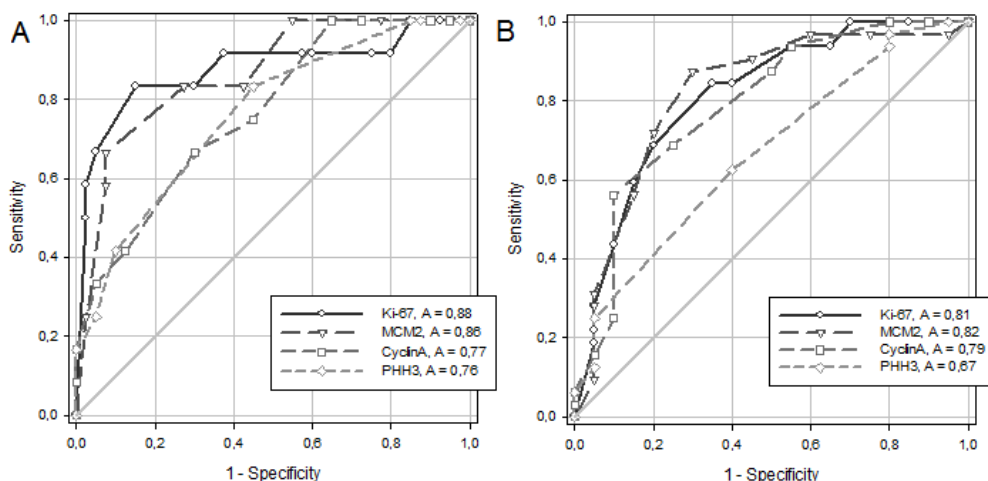
Amennyiben mind a négy marker expressziója szignifikánsan különbözött a vizsgált tulajdonság esetén (mely a nukleáris grade, illetve a szubtípus eloszlás, így a tripla negativitás tekintetében állt fenn), kiegészítő ROC analízist végeztünk (10. ábra).

21. táblázat. Összefüggések a daganatok klinikopatológiai tulajdonságai és a core-biopszia esetén detektált Ki-67, MCM2, Ciklin A és PHH3 expressziója között

Faktor (léziók száma)	Ki-67 átlag	MCM2 átlag	Ciklin A átlag	PHH3 átlag
Klinikai T stádium				
T1 (5)	70,00	70,00	43,00	16,00
T2 (39)	48,52	55,38	24,59	8,38
T3 (5)	46,00	50,00	20,00	6,00
T4 (12)	31,66	16,67	16,67	8,34
p-érték	0,2157	0,0225	0,083	0,0468
Klinikai N stádium				
N0 (21)	42,86	49,29	21,52	8,43
N1-3 (31)	53,77	57,26	28,13	9,19
p-érték	0,1366	0,2578	0,2135	0,3739
Hisztológia *				
IDC (48)	50,98	55,00	26,39	9,17
egyéb (4)	30,00	42,50	14,25	5,50
Nukleáris grade				
II (20)	32,60	38,35	17,20	6,85
III (32)	59,84	63,91	30,63	10,63
p-érték	≤0,0001	≤0,0001	0,0003	0,0424
ER státus				
pozitív (33)	37,33	45,61	19,97	7,64
negatív (19)	70,26	68,68	35,00	11,05
p-érték	≤0,0001	0,0003	0,0011	0,0544
PR státus				
pozitív (30)	36,90	46,83	19,47	7,83
negatív (22)	66,36	66,86	33,64	10,32
p-érték	≤0,0001	0,0089	0,0013	0,1691
Her2 státus				
pozitív (21)	47,86	50,00	24,52	8,67
negatív (31)	50,39	56,77	26,09	9,03
p-érték	0,8245	0,2500	0,9558	0,7958
Tripla negativitás				
nem (40)	41,30	47,63	12,72	7,55
igen (12)	76,25	75,42	37,92	13,34
p-érték	≤0,0001	≤0,0001	0,0046	0,0053
Biológiai szubtypus				
LumA (7)	19,57	37,14	8,43	4,71
Lum B-prolif. (12)	42,50	49,58	24,58	7,25
Lum B-Her2 + (15)	41,66	48,00	21,00	9,13
Her2-pozitív (6)	63,33	55,00	33,33	7,50
Triple negatív (12)	76,25	75,42	37,92	13,34
p-érték	≤0,0001	0,0026	0,0004	0,0119

Aláhúzott: statisztikailag szignifikán különbség;

** alacsony esetszám miatt statisztikai analízis nem történt*



10. ábra ROC analízis a 4 sejtciklus marker (A) nukleáris gradusra és (B) tripla negativitásra mutatott prediktivitására. Rövidítések: A=Area under the curve

A ROC analízis szerint a Ki-67 és az MCM2 expressziója alapján különültek el a legjobban a rosszabb prognózisú, high grade, tripla negatív tumorok.

A műtéti szövettani vizsgálat 52 betegből 21-nél igazolt pCR-t, és 31 betegnél találtunk reziduális tumorszövetet (non-pCR), mely esetben a sejtciklus markerek expresszióját ismételten értékeltük, és vizsgáltuk összefüggésüket a core-biopsziás minták esetén szignifikáns összefüggést mutatott klinikopatológiai tulajdonságokkal (nukleáris grádus és szubtypus) valamint a tumorválasz mértékével (22. táblázat).

22. táblázat. Összefüggések a daganatok klinikopatológiai tulajdonságai és a reziduális tumorban detektált Ki-67, MCM2, Ciklin A és PHH3 expresszió között

Faktor (léziók száma)	Ki-67 átlag	MCM2 átlag	Ciklin A átlag	PHH3 átlag
Tumorválasz				
TR2a (7)	21,00	15,29	7,57	4,71
TR2b (5)	15,6	24,00	11,40	5,20
TR2c (11)	18,27	19,72	10,00	3,09
TR3 (8)	23,25	24,50	12,50	3,62
p-érték	0,7373	0,6655	0,3715	0,3663
Nukleáris grade				
II (17)	13,59	16,65	7,71	3,00
III (14)	27,21	25,50	13,50	5,07
p-érték	0,0322	0,3163	0,2975	0,0705
Biológiai szubtypus				
LumA (7)	8,00	10,14	5,42	2,71
Lum B-prolif. (10)	26,00	24,00	12,60	4,40
Lum B-Her2 + (11)	14,64	14,45	6,00	3,55
Her2-pozitív (2)	37,50	50,00	30,00	7,50
Triple negatív (1)	60,00	70,00	30,00	5,00
p-érték	0,0556	0,0326	0,0339	0,2664

Aláhúzott: statisztikailag szignifikáns különbség

A műtéti szövettan alapján non-pCR kategóriába sorolt daganatok között dominált az IDC (87,1%). A reziduális daganatok közül 17 grade 2, 14 pedig grade 3 differenciáltságú volt. 27 daganat ER-pozitív, 24 PR-pozitív és 13 Her-2 pozitív volt.

Nem volt kimutatható szignifikáns különbség a patológiai válaszreakció mértéke és a vizsgált markerek között. A műtéti szövettan alapján non-pCR kategóriába sorolt daganatok esetében a grade-el csupán a Ki-67 expressziója mutatott szignifikáns összefüggést. Ugyanakkor a reziduális daganatok esetén domináló szubtypusok (elsősorban lúminális daganatok) előfordulásával az MCM2 és a Ciklin A mutatott szignifikáns korrelációt: a lúminális A karakterű daganatok terápiaát követő MCM2 és Ciklin A expressziója szignifikánsan alacsonyabb volt.

4.2 FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében

4.2.1. Válaszmérő score rendszerek alkalmazhatósága a PST során

Összesen 42 beteg esetében vizsgáltuk a különböző score-rendszerek hatékonyságát a PST-ra adott tumorválasz értékelésében (23. táblázat).

A 42 beteg (41 nő és egy férfi) átlagéletkora $48,3 \pm 10,7$ év volt. Főként taxán-bázisú protokollokat alkalmaztunk (n=39), anthraciklin kombinációkban (n=20). A PST kezelés után minden beteg belegyezett a daganat sebészeti eltávolításába: 26 beteg esetén (61,9%) mastectomia, 16 esetben (38,1%) BCS történt ABD (73,8%) vagy SLNB (26,2%) mellett.

23. táblázat. Beteg jellemzők és a daganatok klinikopatológiai tulajdonságai (n=42)

Jellemző	Betegszám	%
Klinikai T stádium		
T1c	6	14.3
T2	31	73.8
T3	3	7.1
T4	2	4.8
Klinikai N stádium		
N0	14	33.3
N1	18	42.9
N2	3	7.1
N3	7	16.7
Szövettan		
Invasiv ductalis carcinoma	39	92.9
Egyéb	3	7.1
Grade		
2	13	30.9
3	29	69.1
Biológiai szubtypus		
Tripla negatív	12	28.6
Her2 pozitív	7	16.7
Luminális B/proliferatív	10	23.8
Luminális B/Her2-pozitív	9	21.4
Luminális A	4	9.5
Kezelési protokoll		
Docetaxel + carboplatin	15	35.7
Trasztuzumab + docetaxel	7	16.7
Epirubicin + docetaxel	6	14.3
Doxorubicin + paclitaxel	5	11.9
Egyéb ^b	9	21.3

^an=41. ^bEgyéb: 3 TAC (docetaxel + doxorubicin + cyclophosphamid), 3 FEC (5-fluorouracil + epirubicin + cyclophosphamid), 3 protokollmódosítás allergiás reakciók miatt (docetaxel + carboplatin → epirubicin + cyclophosphamid; docetaxel + carboplatin → FEC; TAC → docetaxel + carboplatin). ^cIsmeretlen: 1 betegnél. ^dVágópont: 14%. ^eIsmeretlen: 3 betegnél.

A primer tumor esetében a SUVmax és a tumorméret szignifikánsan csökkent a PST hatására. 24 beteg esetében találtunk metabolikusan aktív nyirokcsomó(ka)t, ahol a

SUVmax szintén szignifikánsan csökkent a kezelés hatására. 17 esetben volt morfológiai szempontból mérhető a nyirokcsomó, ezekben az esetekben a méret szignifikánsan csökkent az alkalmazott terápia hatására. A primer tumorok Ki-67 értéke szintén szignifikáns csökkenést mutatott az alkalmazott kezelésre. (24. táblázat)

24. táblázat. A SUVmax, a tumorméret (a primer tumor esetén és az axilláris nyirokcsomó régióban) és a Ki-67 index értéke a PST előtt és után

Marker	PST előtt	PST után	csökkenés %	p-érték
Primer tumor				
SUVmax (n=42)				
Átlag ± SD	12.9 ± 8.6	2.5 ± 2.4	80.6	p<0.001
Medián (IQR)	12.3 (7.2–15.7)	1.6 (1.2–2.6)		
Méret (mm) (n=42)				
Átlag ± SD	32.2 ± 14.7	11.9 ± 14.5	63.0	p<0.001
Medián (IQR)	29 (23–42)	8.5 (0–20)		
Axilláris nyirokcsomó régió				
SUVmax (n=24)				
Átlag ± SD	12.6 ± 9.6	2.5 ± 3.2	80.1	p<0.001
Medián (IQR)	10.15 (7.4–15.6)	1.6 (1–2.3)		
Méret (mm) (n=17)				
Átlag ± SD	23.9 ± 10.6	13.4 ± 15	43.9	p=0.027
Medián (IQR)	21 (15.75–29.3)	11 (0–16.8)		
Core-biopszia és műtéti szövettan				
Ki-67 index (%) (n=42)				
Átlag ± SD	48.9 ± 29.4	13.3 ± 23.3	72.8	p=0.001
Medián (IQR)	42.5(25.0–70.0)	1.0 (0–13.75)		

IQR=interquartilis tartomány; SD=standard deviáció

A műtéti szövettan 18 beteg esetén mutatott pCR-t (42,9%), ebből 3 esetben találtunk DCIS-t. Összesen a betegek 83,3%-a mutatott teljes vagy részleges patológiai remissziót, mindössze 7 beteg esetén nem találtunk regresszióra utaló jelet (Chevallier IV/Sataloff T-D). A pCR tekintetében értékeltük a SUVmax, tumorméret és Ki-67 prediktív értékét. Szignifikáns eltérést találtunk a pCR-t elért és azt el nem ért (non-pCR) betegcsoportok között a kezdeti Ki-67 és SUVmax tekintetében, de a kiindulási tumorméret nem mutatott összefüggést a pCR elérésével. A terápiát követően a pCR-t elért betegeknél kisebb SUVmax-ot és tumorméretet találtunk a non-pCR betegek esetén mértekkel szemben. (25. táblázat)

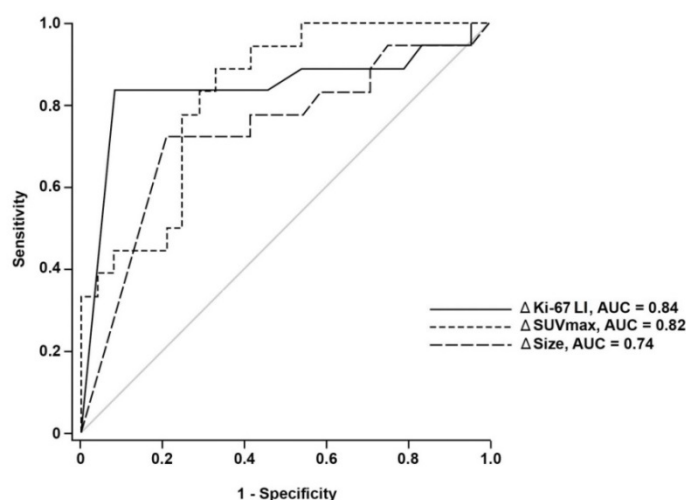
Szignifikáns összefüggést találtunk a Ki-67 index változása és a SUVmax változása között ($r=0,51$; $p=0,0007$). A tumorméret csökkenése szintén korrelált a SUVmax változásával ($r=0,452$; $p=0,00282$) és a Ki-67 csökkenésével ($r=0,49$; $p=0,00088$).

25. táblázat. A pre- és poszterrápiás Ki-67 index, SUVmax, és tumorméret különbségei a pCR és non-pCR betegcsoportokban

Marker	Non-pCR	pCR	p-érték
Preterrápiás			
Ki-67 index (%)			
Átlag ± SD	63.34 ± 24.3	65.56 ± 27.6	p<0.001
Medián (IQR)	32.5 (17.5–60)	70 (40–90)	
SUVmax			
Átlag ± SD	10.75 ± 5.8	15.78 ± 10.8	p=0.042
Medián (IQR)	11.15 (55.7–14.6)	14.5 (12–16.3)	
Méret (mm)			
Átlag ± SD	30.16 ± 13.6	34.89 ± 16.3	
Medián (IQR)	25.0 (21.5–36.5)	30.0 (25–44)	p= 0.237
Poszterrápiás			
Ki-67 LI (%)			
Átlag ± SD	16.67 ± 22.1	8.89 ± 24.7	p<0.001
Medián (IQR)	5 (1–27.5)	0 (0–0)	
SUVmax			
Átlag ± SD	3.2 ± 2.97	1.44 ± 0.63	p=0.004
Medián (IQR)	1.8 (1.5–3.8)	1.39 (1–1.6)	
Méret (mm)			
Átlag ± SD	15.17 ± 15.01	7.56 ± 12.97	p=0.045
Medián (IQR)	14.5 (3.5–22)	0 (0–20)	

IQR=interquartilis tartomány; SD=standard deviáció

ROC analízist végeztünk, hogy értékeljük a Ki-67, SUVmax és tumorméret változásának összefüggését a pCR-el (11. ábra). A ROC analízis görbe alatti területei a három marker esetén hasonlóan bizonyultak, a Ki-67 mutatta a legnagyobb pontosságot a pCR elkülönítésében a non-pCR betegcsoporttól (AUC=0,84), melyet a SUVmax (AUC=0,82) majd a tumorméret változása követett (AUC=0,74).



11. ábra. A ROC analízis a Ki-67, SUVmax és tumorméret prediktivitásának értékelésére a pCR tekintetében. AUC=görbe alatti terület

A tumorválasz értékelése során a PST hatására elért klinikai választ besoroltuk a WHO, RECIST, EORTC és PERCIST rendszerek szerint, valamint az elért patológiai választ besoroltuk a Chevallier és Sataloff kritériumok alapján (26. táblázat).

26. táblázat. A tumorválasz értékelése a válaszmérő score-rendszerek alapján

	betegek száma, n (%)				ORR, n (%)
	CR	PR	SD	PD	
WHO	18 (42.9)	8	16	0	26 (61.9)
RECIST	20 (47.6)	11	11	0	31 (73.8)
EORTC	28 (66.7)	11	3	0	39 (92.9)
PERCIST	28 (66.7)	10	4	0	38 (90.5)
Ki-67 score	29 (69.0)	2	4	7	31 (73.8)
	I	II	III	IV	
Chevallier	15	3	17	7	18 (42.9)
	T-A	T-B	T-C	T-D	
Sataloff	18	5	12	7	23 (54.7)

n: betegszám; ORR: teljes tumorválasz aránya (CR+PR)

Értékeltek a klinikai válasz értékelésére alkalmazott és a patológiai válasz mérésére használt fent leírt score-rendszerek összefüggéseit (27. táblázat). A Chevallier és Sataloff értékelés alapján besorolt tumorválasz a legjobb összefüggést a RECIST és WHO rendszerekkel mutatta. Szignifikáns összefüggést találtunk a Ki-67 LI score és a PERCIST és EORTC rendszerek között, de a Ki-67 score a RECIST és WHO rendszerek közötti korreláció enyhén, de erősebbnek bizonyult. A Ki-67 score értéke a patológiai remisszió mértékével a klinikai válasznál gyengébb összefüggést mutatott.

27. táblázat. Az értékelőrendszerek közötti összefüggések

	Sataloff	PERCIST	EORTC	RECIST	WHO	Ki-67
Chevallier	r=0.959 p<0.001	r=0.36 p=0.019	r=0.361 p=0.019	r=0.502 p<0.001	r=0.537 p<0.001	r=0.374 p=0.015
Sataloff	–	r=0.35 p=0.026	r=0.344 p=0.028	r=0.404 p=0.009	r=0.462 p=0.002	r=0.298 p=0.05
PERCIST	–	–	r=0.995 p<0.001	r=0.448 p=0.003	r=0.357 p=0.02	r=0.461 p=0.002
EORTC	–	–	–	r=0.436 p=0.004	r=0.346 p=0.025	r=0.483 p=0.001
RECIST	–	–	–	–	r=0.924 p<0.001	r=0.524 p<0.001
WHO	–	–	–	–	–	r=0.483 p=0.001

A válaszmérő kritériumok szerinti besorolás néhány esetben alacsony betegszámot eredményezett (26. táblázat). Kiemelendő továbbá, hogy a mindennapi gyakorlatban a PST legfontosabb végpontja a pCR elérése, így a klinikai komplett remisszió a legfontosabb válaszkategória, melyet képalkotóval pontosan definiálnunk szükséges. Mindezekből kifolyólag kettős, „klinikai komplett remissziót elért”- „klinikai komplett remissziót el nem ért” betegcsoportok képzése mellett döntöttünk a szokott négyes kategorizálás helyett (komplett remisszió, parciális remisszió, stabil betegség, progresszió), hogy így növeljük eredményeink statisztikai értékét. Az így képzett ismételt korrelációs vizsgálatokat végeztünk (28. táblázat).

28. táblázat. Korrelációs vizsgálat az ismert kritériumrendszerek módosított válaszkategóriáit felhasználva (komplett remisszió vs. egyéb tumorválasz)

	Sataloff_2	PERCIST_2	EORTC_2	RECIST_2	WHO_2	Ki-67_2
Chevallier_2	r=0.861 p<0.000	r=0.556 p<0,000	r=0.444 p=0,003	r=0.521 p<0.001	r=0.559 p<0.001	r=0.284 p=0.06
Sataloff_2	–	r=0.545 p=0,002	r=0.406 p=0,0078	r=0.470 p<0.001	r=0.514 p<0.001	r=0.268 p=0.08
PERCIST_2	–	–	r=0,799 p<0.000	r=0.478 p=0.001	r=0.445 p<0.003	r=0.576 p<0.001
EORTC_2	–	–	–	r=0.433 p=0.004	r=0.406 p=0.007	r=0.538 p<0.000
RECIST_2	–	–	–	–	r=0.924 p<0.001	r=0.402 p=0.008
WHO_2	–	–	–	–	–	r=0.372 p=0.01

A kettős válaszkategóriák alkalmazása (komplett remisszió vs. egyéb tumorválasz) javított a PERCIST rendszer és a pCR valamint a PERCIST eredmények és a tumor proliferációs aktivitása közti korreláción. A morfológiai választ tekintve a módosított RECIST értékelés mind a pCR elérésével, mind a Ki-67 score szerinti tumorválasszal közepesen erős korrelációt mutatott, emellett a metabolikus válasszal is összefüggött.

Az új kategóriák alkalmazása a PERCIST hatékonysága mellett a morfológiai kritérium rendszerek, különösen a RECIST fontosságát is hangsúlyozta a PST-t követő pCR előrejelzésében.

4.2.2. Válaszmérés Her2 overexpressziót mutató daganatokban

2008 és 2013 között 188 PST kezelésen átesett beteg közül 46 Her2 overexpresszáló daganatot azonosítottunk, 43-at választottunk be jelen analízisünkbe (3 beteg a PST kezelést nem fejezte be) (29. táblázat).

29. táblázat. A beválasztott betegek és a daganatok tulajdonságai (n=43)

Jellemző	No.	%
Klinikai T stádium		
T1c	4	9.3
T2	28	65.1
T3	5	11.6
T4	6	14
Klinikai N stádium		
N0	19	44.2
N1	18	41.9
N2	2	4.6
N3	4	9.3
Szöveti típus		
Invasiv ductalis carcinoma	37	86.1
Invasiv lobularis carcinoma	2	4.6
Egyéb	4	9.3
Grade^a		
2	13	30.2
3	28	65.1
Biológiai szubttípus		
Her2-pozitív	15	34.9
Luminal B/Her2- pozitív	28	65.1
Ki-67 index^{b,c}		
Magas	35	81.4
Kezelési protokollok – 1. kezelési csoport (n=26)		
Docetaxel + carboplatin	9	34.6
Docetaxel + epidriamycin	6	23.1
Doxorubicin + paclitaxel	3	11.5
5-fluorouracil+epirubicin+cyclophosphamid (FEC)	2	7.7
Docetaxel + doxorubicin+ cyclophosphamid (TAC)	6	23.1
Kezelési protokollok – 2. kezelési csoport (n=17)		
Trasztuzumab + Docetaxel 4x → FEC 4x	9	53
Trasztuzumab + Docetaxel + carboplatin	4	23.5
Trasztuzumab + Docetaxel	4	23.5

^a Grade I: 0, ismeretlen: 2 beteg ^b ismeretlen: 2 beteg. ^c Cut-off: 14%. ^d ismeretlen: 3 beteg.

A 43 beteg közül (átlagéletkor $51,47 \pm 11,07$ év) 15 esetben Her2-pozitív szubttípust, 28 esetben Luminális B/Her2-pozitív daganatot detektáltunk. 26 beteg esetében főként taxán-bázisú PST kezelést alkalmaztunk, trasztuzumabot csak adjuvánsan kaptak a betegek (1. kezelési csoport); míg 17 beteg esetén a célzott trasztuzumab kezelést már a PST részeként alkalmazni tudtuk (2. kezelési csoport). A PST kezelés után minden beteg beleegyezett a daganat sebészeti eltávolításába: 25 beteg esetén (58,1%) mastectomia, 18 esetben (41,9%) BCS történt 40 ABD (93%) és 3 SLNB (7%) mellett. Re-excízióra egy esetben sem volt szükség.

Mindkét betegcsoport kedvező tumorválaszt mutatott a PST kezelésre. Az 1. kezelési csoportból 10 beteg (38,5%) a 2. kezelési csoportból 8 fő (47%) érte el a pCR-t. (30. táblázat).

30. táblázat A pCR-t elért és el nem ért (non-pCR) betegcsoport összehasonlítása a 1. (standard PST) és 2. (trasztuzumab-PST) kezelési csoportban

	1. kezelési csoport			2. kezelési csoport		
	N	Átlag ± SD	p-érték	N	Átlag ± SD	p-érték
Szöveti tulajdonságok						
Ki-67 index (%)						
<i>pCR</i> ^a	9	52.7 ± 25.1	0.16	8	32.5 ± 13.7	0.45
<i>non-pCR</i> ^b	16	37.4 ± 23.6		8	29.4 ± 18.8	
grade*						
<i>pCR</i> ^c	grade 2= 4	grade 3= 5	0.67	grade 2= 0	grade 3= 8	0.07
<i>non-pCR</i> ^d	grade 2= 5	grade 3= 11		grade 2= 4	grade 3= 4	
szubttípus*						
<i>pCR</i>	Luminális B/Her2-poz.= 3 Her2-pozitív = 7		0.04	Luminális B/Her2-poz.= 4 Her2- pozitív =4		0.03
<i>non-pCR</i>	Luminális B/Her2-poz. = 12 Her2- pozitív = 4			Luminális B/Her2-poz.= 9 Her2- pozitív =0		
Tumorválasz						
SUVmax1						
<i>pCR</i>	5	27.1 ± 17.8	0.02	8	13.1 ± 6.4	0.37
<i>non-pCR</i>	9	12.1 ± 4.9		8	9.8 ± 4.2	
SUVmax2						
<i>pCR</i>	5	1.4 ± 0.7	0.59	8	1.5 ± 0.5	0.10
<i>non-pCR</i>	9	1.9 ± 1.4		8	3.4 ± 3.2	
SUVmax változása						
<i>pCR</i>	5	92.7 ± 5.5	0.14	8	84.5 ± 11.8	0.05
<i>non-pCR</i>	9	80 ± 16.2		8	64 ± 28.8	
méret1 (mm)						
<i>pCR</i>	10	34.3 ± 14.6	0.38	8	29.6 ± 7.1	0.74
<i>non-pCR</i>	16	28.7 ± 13.3		9	36.9 ± 18.1	
méret2 (mm)						
<i>pCR</i>	8	9.7 ± 8.7	0.17	8	10.7 ± 6.9	0.12
<i>non-pCR</i>	12	15.6 ± 9.9		5	22.6 ± 16.2	
méret változás						
<i>pCR</i>	8	74.1 ± 20.31	0.07	8	64.8 ± 26.6	0.12
<i>non-pCR</i>	12	46.8 ± 35.1		5	38.9 ± 21.2	

^a Ismeretlen: 1 beteg esetén az 1. kezelési csoportból; ^b Ismeretlen: 1 beteg esetén a 2. kezelési csoportból ^c

Ismeretlen: 1 beteg esetén az 1. kezelési csoportból; ^d Ismeretlen: 1 beteg esetén a 2. kezelési csoportból

* Fisher egzakt teszt eredmények. Egyébiránt Mann-Whitney tesztet alkalmaztunk.

A szignifikáns eredményeket aláhúzással jelöltük (p-érték).

Mindkét kezelési csoportban a pCR szignifikánsan gyakoribb volt a Her2-pozitív szubttípusba tartozó daganatok esetén, mint a Luminális B/Her2-pozitív tumorokban (az 1. kezelési csoportban p=0,043, a 2. csoportban p=0,029). A 15 Her2-pozitív daganatból 11 mutatott pCR-t, 7 az 1. kezelési csoportból és 4 a 2. csoportból. 28 Luminális B/Her2-pozitív tumorból csupán 7 esetben detektáltunk pCR-t, 3 betegnél az 1. kezelési csoportból és 4-nél a 2. csoportból.

Az 1. kezelési csoportban a kezdeti FDG-felvétel szignifikánsan magasabbnak bizonyult a pCR-t elért betegeknél, mint a pCR-t el nem ért (non-pCR) csoportban. A tumormetabolizmus egyéb paraméterei, a morfológiai válasz, és a kezdeti Ki-67 LI nem mutatott szignifikáns különbséget a pCR és non-pCR betegcsoportban. (30. táblázat).

Mind a 43 daganat morfológiailag mérhető volt a diagnózis időpontjában (mind UH-al, mind CT-vel a RECIST 1.1 szerint), valamint metabolikusan aktívnak bizonyult az FDG-PET/CT vizsgálatokon. PET/CT vizsgálat az 1. csoport esetén 14, a 2. csoport esetén 16 betegnél történt. Minden beteg esetén staging UH vizsgálatot végeztünk, UH kontroll az 1. csoportban 20, a 2. csoportban 13 betegnél volt értékelhető a PST után.

Teszteltük a PET/CT és az emlő-UH pontosságát a pCR és non-pCR esetek elkülönítésében (31. táblázat).

31. táblázat. Az emlő UH és az FDG-PET/CT diagnosztikus értéke az 1. és 2. betegcsoportban

	Ultrahang		PET/CT 1. módszer		PET/CT 2. módszer	
	1. csoport (n=20)	2. csoport (n=16)	1. csoport (n=14)	2. csoport (n=16)	1. csoport (n=14)	2. csoport (n=16)
Szenzitivitás (%) (95% CI)	83.3 (51.6-97.4)	100 (47.9-100)	22.2 (3.5-59.9)	37.5 (9-75.3)	77.8 (40.1-96.5)	87.5 (47.4-97.9)
Specifititás (%) (95% CI)	25.0 (3.4-64.9)	12.5 (2.1-52.6)	100 (47.9-100)	87,5 (47.4-97.9)	100 (47.9-100)	62.5 (24.7-91)
PPV (%) (95% CI)	62.5 (35.5-84.7)	41.7 (15.3-72.2)	100 (19.3-100)	75 (20.3-95.9)	100 (58.9-100)	70.0 (34.8-92.9)
NPV (%) (95% CI)	50.0 (8.3-91.7)	100 (16.5-100)	41.7 (15.3-72.2)	58.3 (27.7-84.7)	71.4 (29.3-95.5)	83.3 (36.1-97.2)
Fals pozitívitas	6	7	0	1	0	3
Fals negatívitas	2	0	7	5	2	1

PPV: pozitív prediktív érték, NPV: negatív prediktív érték; CI: konfidencia intervallum

Az UH esetében az eredmények hasonló mintázatot követtek: a fals pozitív esetek száma igen magas volt (hat az 1. míg hét a 2. betegcsoportban), míg a PPV (62,5% az 1.csoportban és 41,7% a 2.csoportban) és a specifititás (25% és 12,5%) alacsony maradt. Mindemellett a fals negatív esetek száma alacsony volt, mindössze kettő az 1. kezelési csoportban, míg nulla a 2.-ban.

A PET/CT-vel mért tumorválasz tekintetében az 1. módszer (egyszerűsített PERCIST kritériumok alapján végzett tumorválasz mérés) esetén magasabb volt a fals negatív esetek száma az emlő UH-al összehasonlítva (hét eset az 1. és öt a 2. kezelési csoportban). Azonban a fals pozitív esetek igen alacsony volt (nulla az 1. kezelési

csoportban míg egy eset a 2. csoportban), a reziduális betegséget a PET igen érzékenyen detektálta.

A tumorválaszt a PET/CT 2. módszer szerinti értékelésével (PERCIST és RECIST kritériumok együttes definíciója a komplett remisszióra) mind a szenzitivitás (77,8% az 1. és 87,5% a 2. kezelési csoportban) mind a specificitás (100% és 62,5%) magasnak bizonyult. A fals pozitív (nulla az 1. és három a 2. kezelési csoportban) és a fals negatív (kettő az 1. és egy a 2. csoportban) esetek száma is alacsony volt. Az NPV is magasabb volt a PET/CT 1. módszerénél detektáltaknál (az 1. csoportban 71,4% vs 41,7%, a 2. csoportban 83,3% vs 58,3%).

4.3.3. Biológiai szubtypusok hatása a tumorválasz értékelésére

A vizsgált 6 éves periódusban 188 PST kezelésen átesett beteg közül 87 esetben történt FDG-PET/CT a kezelés hatásosságának monitorozására, közülük 71 beteget tudtunk beválasztani a vizsgálatba. Kizártuk azokat a betegeket, akiknél (a) nem állt rendelkezésre core-biopsziás anyag (n=2); (b) nem került sor a daganat sebészeti ellátására – a műtétet elhalasztották nem-daganattal összefüggő egyéb társbetegség miatt (n=3) vagy a beteg nem egyezett bele a műtéti ellátásba (n=8) – vagy (c) a betegek testsúlyuk több, mint 10%-át elvesztették a kezelés ideje alatt (n=3).

A grade 3 (44/71, 61,9%) invazív duktális emlődaganat (64/71, 90,1%) dominált a betegcsoportban. A biológiai szubtypust tekintve 8 Luminális A, 17 Luminális B/proliferatív, 19 Luminális B/Her2-pozitív, 10 Her2-pozitív és 17 tripla negatív daganatot vizsgáltunk. (32. táblázat)

Minden beteg (n=71, életkor: $49,3 \pm 11,5$ év) PST kezelésben részesült, főleg taxán bázisú kezeléseket alkalmaztunk (n=51), platina származékokkal (n=24) vagy anthraciklinekkel (n=27) kombinálva. 13 Her2 overexpresszáló emlődaganatot kezeltünk neoadjuváns trastuzumab hozzáadásával, szintén taxán-alapú kezelés mellett. Négy esetben FEC (5-fluorouracil + epirubicin + cyclophosphamide) kezelést adtunk, illetve 3 esetben protokollmódosítás történt allergiás reakciók miatt.

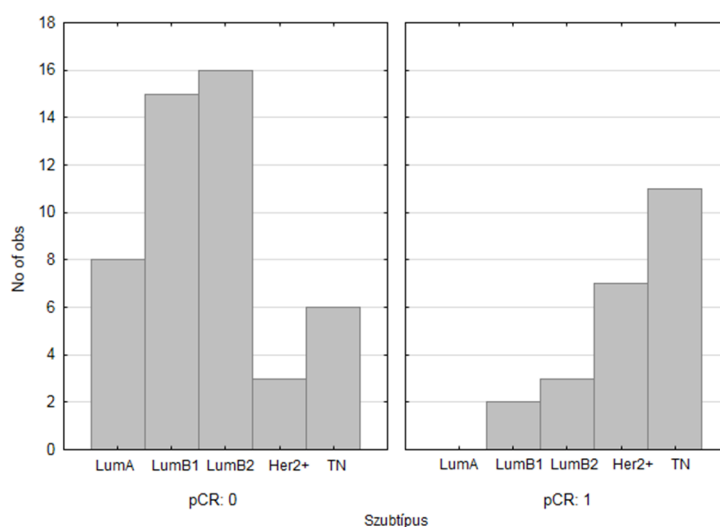
A PST után minden beválasztott beteg beleegyezett a sebészeti ellátásba, 44 beteg, (62 %) mastectomián esett át, míg 27 esetben (38%) BCS-t végeztek, 58 ABD (81,7%) és 13 SLNB (18,3%) mellett. Re-excízióra nem volt szükség egy esetben sem.

32. táblázat. Beteg jellemzők és daganat karakterisztika (n=71)

Jellemző	No.	%
Klinikai T stádium		
T1c	7	9.9
T2	52	73.2
T3	8	11.3
T4	4	5.6
Klinika N stádium		
N0	28	39.4
N1	28	39.4
N2	8	11.3
N3	7	9.9
Hisztológia		
Invasiv ductalis carcinoma	64	90.1
Egyéb	7	9.9
Grade^b		
2	24	33.8
3	44	61.9
Ki-67 index^c		
Magas	61	85.9
Alacsony	10	14.1
Biológiai szubttípus		
Luminális A	8	11.3
Luminális B/proliferatív	17	23.9
Luminális B/Her2-pozitív	19	26.8
Her2- pozitív	10	14.1
Tripla Negatív	17	23.9

^a nem alkalmazható az 1 beválasztott férfibeteg esetén; ^b nem ismert 3 betegnél; ^c Cut-off: 14%.

A patológiai válasz szempontjából 2 csoportra osztottuk a betegeket: patológiai komplett remissziót elért (pCR) és el nem ért (non-pCR) betegcsoportra. 23 beteg mutatott pCR-t (32,4%) míg 48 esetben volt jelen reziduális daganat a műtéti szövettani mintában (67,6%). A pCR és non-pCR betegcsoportok szignifikánsan eltértek a szubttípusok előfordulásában (Chi-négyzet=24,09, df=4, p=0,00008). (12. ábra)



12. ábra. A szubttípusok eloszlása a pCR-t elért (pCR: 1) és a non-pCR (pCR: 0) csoportban (LumA: Luminális A, LumB1: Luminális B/proliferatív, LumB2: Luminális B/Her2-pozitív, Her2+: Her2-pozitív, TN: Tripla negatív)

A 17 Luminális B/proliferatív betegből 2 esetben fordult elő pCR (11,8%), a 19 Luminális B/Her2-pozitív betegből 3 (15,7%), a 10 Her2-pozitív tumorból 7 (70%) míg a 17 tripla negatív daganatból 11 (64,7%) mutatott pCR-t. A Luminális A típus esetén (8 fő) egyik tumor sem mutatott komplett remissziót a kezelés hatására.

Értékeljük az FDG-PET/CT esetén mérhető szemikvantitatív (SUVmax) és kvantitatív (tumor méret) paraméterek hatékonyságát a pCR előrejelzésében. A primer daganatok esetén szignifikáns különbséget találtunk a pCR és non-pCR betegcsoportok között a SUVmax változásában (Δ SUVmax) ($p=0,000012$; $88,11\pm 6,26\%$ vs. $62,22\pm 30,53\%$) és a tumorméret változásában ($p=0,000166$; $83,96\pm 32,71\%$ vs. $47,06\pm 32,18\%$). Az axilláris nyirokcsomó régió tekintetében csupán a SUVmax változása volt szignifikánsan eltérő a pCR és non-pCR betegcsoportok között ($p=0,0233$; $80,81\pm 23,11\%$ vs. $69,96\pm 23,38\%$), míg a méret változása nem ($p=0,41$; $73,8\pm 25,34\%$ vs. $62,78\pm 35,53\%$).

Értékeljük a két új módszerrel végzett PET/CT válaszmérés hatékonyságát is a pCR és non-pCR betegcsoportok elkülönítésében (33. táblázat).

33. táblázat. A diagnosztikus vizsgálatok értékelése. A PET/CT vizsgálatok 1. és 2. PET/CT módszer szerinti értékelésének szenzitivitása, specificitása, pozitív prediktív (PPV), negatív prediktív értéke (NPV) valamint pontossága

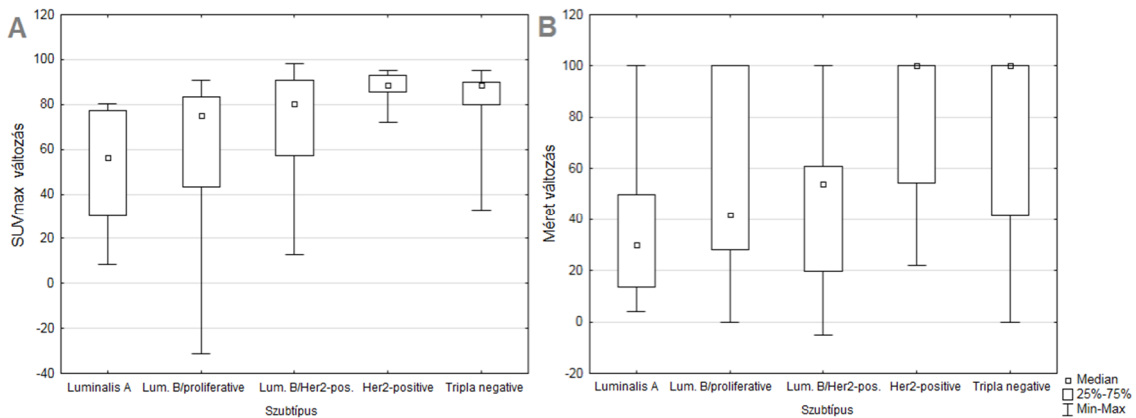
	PET/CT vizsgálatok értékelése	
	PET/CT Módszer 1	PET/CT Módszer 2
Szenzitivitás (95% CI)	43.75% (29.5-58.8)	75% (60.4-86.4)
Specificitás (95% CI)	91.3% (71.9-98.7)	78.26% (56.3-92.5)
Pozitív prediktív érték (95% CI)	91.3% (71.9-98.7)	87.8% (73.8-95.9)
Negatív prediktív érték (95% CI)	43.75% (29.5-58.8)	60% (40.6-77.3)
Fals pozitívitas	2	5
Fals negatívitas	27	12
Pontosság	59%	76%

Rövidítések: 95% CI: 95 % konfidencia intervallum

A tumor viabilitásának az 1. módszer szerint végzett értékelése magasabb fals negatív esetszámot eredményezett, mint a 2. módszer (27 vs. 12 eset): a CR_{módszer1} definíciója nem tűnik elégségesnek a pCR és non-pCR betegcsoport elkülönítésére (szenzitivitás 43,75%). Mindemellett, csupán 2 fals pozitív eset fordult elő: az 1. módszer a reziduális daganatot pontosan detektálta, a pozitív prediktív érték 91,3%-nak

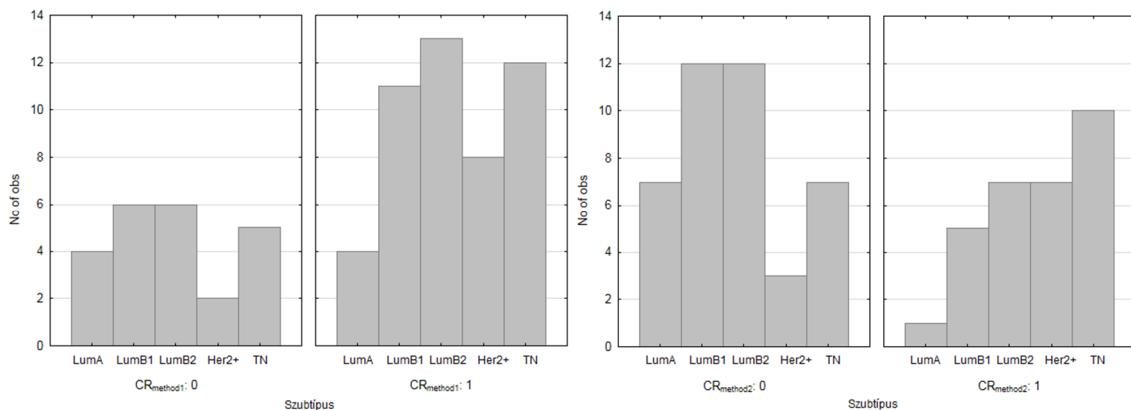
bizonyult. A 2. módszer esetén a fals negatív esetek száma csökkent, a negatív prediktív érték is magasabbnak bizonyult az 1. módszernél talátnál (60% vs. 43,75%), a kombinált értékelés szenzitivitása 75%-os volt. A specificitás magas maradt (78,26%), az értékelés mindössze 5 esetben volt fals pozitív. Összességében a 2. PET/CT módszer pontossága magasabbnak bizonyult az 1. módszerénél (76% vs. 59%).

Ezután megvizsgáltuk a biológiai szubtypusok hatását a tumorválasz értékelésére. Mind SUVmax változása ($p=0,0044$) mind a morfológiai remisszió ($p=0,0331$) szignifikáns eltérést mutatott az egyes szubtypusok között. A Her2-pozitív daganatok mutatták a legnagyobb az FDG-felvétel csökkenést a PST hatására, míg a SUVmax változása a Luminális A daganatokban volt a legkisebb. (13. ábra)



13. ábra. A SUVmax (A) és a méret (B) változása a különböző szubtypusokban a PST hatására

Nem találtunk különbséget a szubtypusok eloszlásában sem a $CR_{módszer1}$ és non- $CR_{módszer1}$ betegcsoportok (Chi-négyzet=1,9737, $df=4$, $p=0,7405$) sem a 2. PET/CT módszer szerint elkülönített két betegcsoport ($CR_{módszer2}$ és non- $CR_{módszer2}$) között (Chi-négyzet=9,3477, $df=4$, $p=0,0529$), azonban a $CR_{módszer2}$ betegcsoportban domináltak a Her2-overexpresszáló ($n=14$) és a tripla negatív ($n=10$) daganatok. (14. ábra)



14. ábra. A szubtypusok eloszlása a PET/CT-vel elkülönített CR és a non-CR csoportokban (LumA: Luminális A, LumB1: Luminális B/proliferatív, LumB2: Luminális B/Her2-pozitív, Her2+: Her2-pozitív, TN: Tripla negatív)

4.3. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése

4.3.1 Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálat emlődaganatos betegek esetében

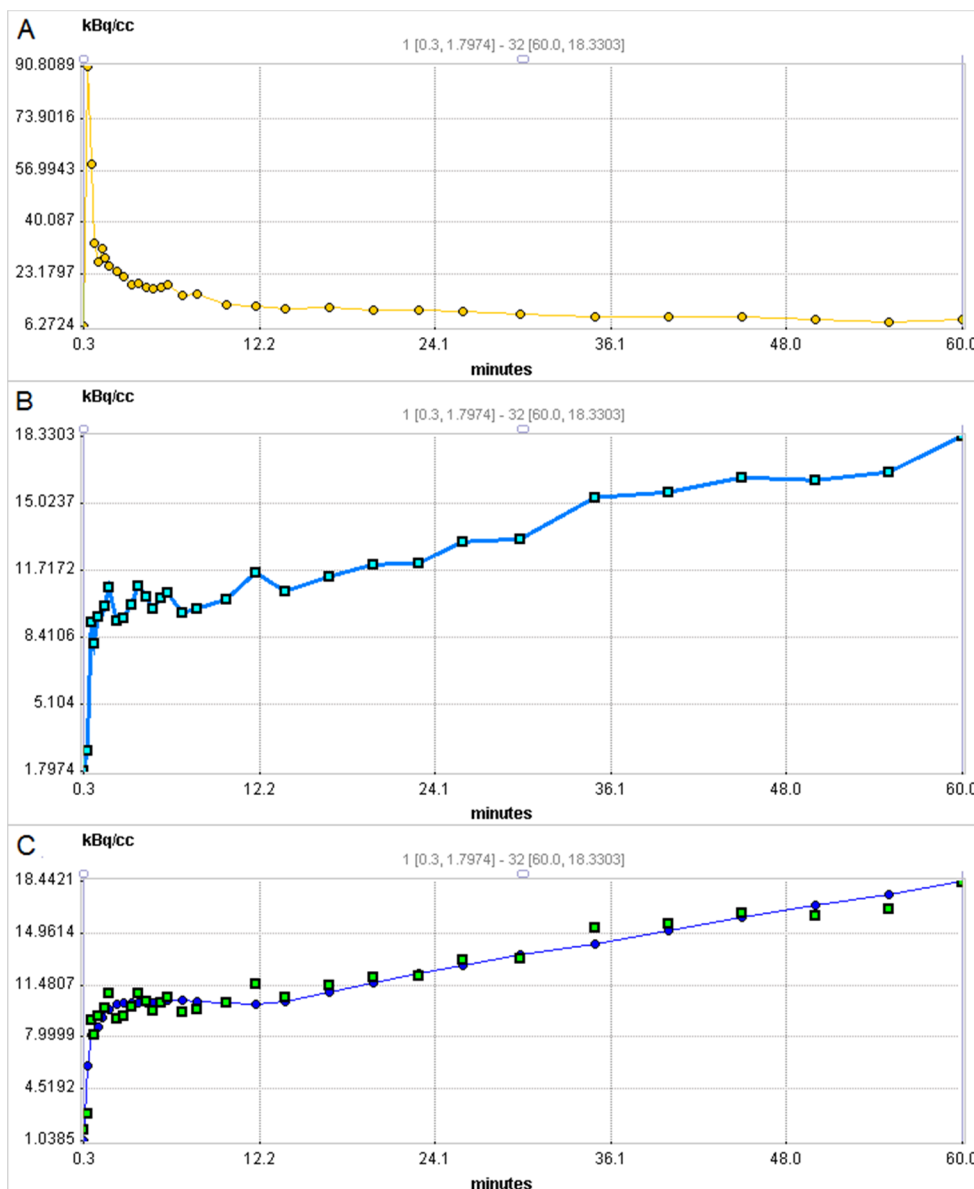
Dinamikus vizsgálatainkba a betegbevonás jelenleg is zajlik (2015.09.15.-éig 34 fő került beválasztásra), a tervezett betegszám (minimum 40 fő) eléréséig. Előzetes eredményeinket esettanulmány formájában mutatjuk be.

38 éves nőbetegünk egy 3 cm nagyságú, mobilis, bőrt és axillát nem involváló daganatot észlelt önvizsgálat során a bal emlő külső-felső kvadránsában. A 26x14x22 mm-es daganat ultrahang vezérelt core-biopsziája grade 3 IDC-t igazolt, mely Luminális B/Her2-pozitív szubtípusú volt (ER pozitív, PR pozitív, Her2 3+ pozitív). A Ki-67 index meghatározása mellett (70%), vizsgáltuk az MCM2 (70%), a Ciklin A (30%) és a PHH3 expresszióját (10%, 29 mitózis/10 NNL) is.

A tervezett PST kezelés megkezdése előtt staging statikus FDG-PET/CT vizsgálat történt, melyet dinamikus adatgyűjtéssel egészítettünk ki a primer tumorra vonatkozóan. A dinamikus adatgyűjtés értékelése során a teljes vér aktivitáskoncentrációjának változását egy bal kamrába helyezett (VOIwhole blood) és egy, a primer tumor jelölésére használt (VOItumor) gömb VOI segítségével vizsgáltuk. A 15. ábrán az aktivitás görbék az idő függvényében ábrázolják a dinamikus képalkotás során detektált szöveti aktivitást (kBq/cm³) mindkét VOI-ban (a plazma aktivitás TAC görbéje a 15./A ábrán, a tumor aktivitás TAC görbéje a 15./B ábrán látható). A 15. ábra C részén a vizsgált régióra (azaz primer tumor) illesztett kétkompartmentes FDG-felvételi modell (ld. 1.3.5.3.1. fejezet) illesztett görbéje látható.

A légzéssel összefüggő, illetve az adatgyűjtés alatt bekövetkező egyéb akaratlan mozgások okozta műtermékek elkerülésére minden időszeleten (frame) elvégeztük a VOI manuális igaztását (VOI₁), valamint szemiautomatikus módszerrel a maximális aktivitást mutató voxelre centrálását (VOI₂) is. A fenti méréseket két alvizsgáló egymástól függetlenül végezte. A 34. táblázat a két vizsgáló által kijelölt VOI-kból számolható kinetikai paramétereket (sebességi állandók és MRFDG értéke) mutatja be.

A dinamikus adatgyűjtés után végzett staging PET/CT vizsgálaton a daganat intenzív FDG-akkumulációt mutatott, a SUV_{max} 12,2 volt a bal emlő primer tumora esetén, másutt makroszkópos, FDG-avid malignitásra utaló halmozás nem volt észlelhető.



15. ábra. A dinamikus adatgyűjtés alapján generált szöveti-aktivitás görbék (TAC). A bal kamra területén detektált teljes vér (A) és a primer tumor esetében mért regionális FDG-felvétel időbeli változásának TAC görbéje (B), valamint (C) a vizsgált régióra illesztett kétkompartmentes FDG-felvételi modell illesztett TAC görbéje

34. táblázat. A két vizsgáló által meghatározott kinetikai paraméterek (sebességi állandók és az MRFDG értéke) a dinamikus képalkotás értékelése során

	VOI 1		VOI 2	
	Vizsgáló 1	Vizsgáló 2	Vizsgáló 1	Vizsgáló 2
K1 (SD)	0.1896 (0.014)	0.2284 (0.0177)	0.1925 (0.014)	0.2038 (0.021)
k2 (SD)	0.4662 (0.057)	0.6019 (0.0733)	0.4645 (0.058)	0.5119 (0.087)
k3 (SD)	0.0658 (0.005)	0.0782 (0.005)	0.0624 (0.005)	0.0636 (0.006)
Ki (SD)	0.0234 (0.0006)	0.0262 (0.0006)	0.0228 (0.0007)	0.0222 (0.0009)
MRFDG†	12.18 (0.348)	13.64 (0.340)	11.84 (0.360)	11.71 (0.473)

SD: standard deviáció; †: LC=1

A betegnél 6 ciklus trastuzumab + taxán alapú kombinált PST után restaging statikus vizsgálatot végeztünk: az FDG-felvétel a háttéraktivitás szintje alá csökkent ($SUV_{max}=1,7$, $SUV_{BBP}=1,9$), a daganat teljes CT-morfológiai remissziója mellett. Ezt követően subcutan mastectomia (azonnali rekonstrukcióval) és SLNB történt. A mastectomiás készítményben mindössze egyetlen gócban volt DCIS fellelhető, így a terápiás válasz Chevallier II, Sataloff T-A, EWBPSG TR1b volt. Az SLNB során eltávolított 3 nyirokcsomó tumormentesnek igazolódott (0/3). A beteg adjuváns trastuzumab kezelését subcutan készítménnyel folytattuk, összességében 1 évig részesült trastuzumab terápiában (16 ciklus). Az utánkövetés végzésének idején (2015.09.15.) a beteg tünet és panaszmentes, a PFS elérte a 22 hónapot.

4.3.2 Az FDG-PET/CT hatékonysága a PST során a korai tumorválasz mérésében

52 éves nőbetegünk önvizsgálat során fedezte fel jobb emlőjében a körülírt, tapintható elváltozást. Utoljára másfél évvel az észlelés előtt vett részt rutin mammográfiás szűrésen, negatív eredménnyel. Ambulanciánkon 4-6 hetes anamnézissel jelentkezett, mely idő alatt az elváltozás megjelenését és növekedését észlelte. A nullipara beteg anamnézisében endometriózis miatt végzett hiszterektómia és kétoldali petefészek eltávolítás (47 évesen) szerepelt. A fenti műtétet követően 3 hónapig hormonpótló kezelésben részesült.

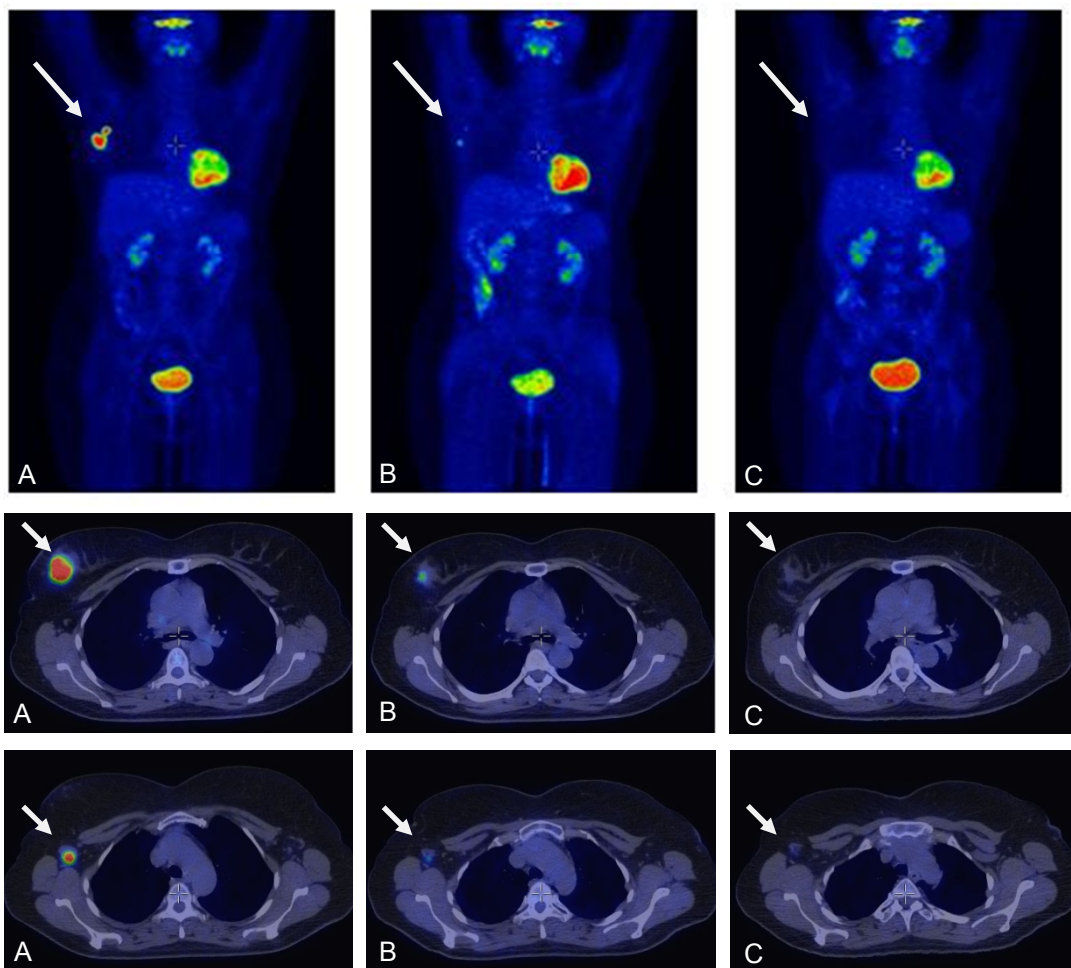
Fizikális vizsgálattal egy közel 4 cm-es átmérőjű terimét észleltünk a jobb emlő külső-felső kvadránsában. Az emlő bőre gyulladáshoz jeleket mutatott (a beteg fotódokumentáció készítésébe nem egyezett bele). A mammográfia 2,5 cm átmérőjű, spikulált léziót detektált, az ultrahang 27x20 mm echoszegény inhomogén masszát írt le, megnagyobbodott axilláris nyirokcsomókkal.

Az elvégzett FNAB grade 3 emlődaganatot talált (C5). A core-biopsziás mintavétel grade 3, tripla negatív (ER negatív, PR negatív, Her2 negatív), invazív ductalis carcinomát igazolt, 100% p53 expresszióval (E-cadherin és CK-7 pozitív, CK5/6 negatív). Emellett, szemben az agresszív klinikai viselkedéssel, közepes mitotikus aktivitást (9 mitózis/10NNL) írtak le, 10%-os Ki-67 index mellett.

A staging FDG-PET/CT vizsgálat (GE Discovery ST 8 PET/CT, GE Medical Systems, Waukesha, WI, USA) metabolikusan aktív daganatot ($SUV_{max} 15,7$) mutatott az ismert lokalizációban, valamint – a klinikai tünetekkel összhangban – az emlő bőrén is közepes metabolikus aktivitást detektált. Az ultrahanggal azonosított szoliter

nyirokcsomó áttét is patológiás FDG-felvételt mutatott (SUVmax 17,7). Távoli metasztázisra utaló jelet nem találtunk, a klinikai stádium cT2N1M0 volt. (16./A ábra).

Az onkoteam a rapid tumornövekedés és a mastitis-szerű viselkedés miatt PST kezelést indikált. A betegnél az első ciklus docetaxel-carboplatin PST hatására a mastitis jellegű tünetek és az erythema csökkentek, azonban a tumor nem mutatott méretbeli regressziót. A klinikus az ellentmondó fizikális lelet és a korábban leírt alacsony core-biopsziás Ki-67 index miatt interim PET/CT vizsgálatot rendelt a tumorválasz értékelésére (16./B ábra).



16. ábra. Staging (A), Interim (B) és Restaging (C) FDG-PET/CT vizsgálatok. Mindhárom vizsgálat esetén bemutatjuk (felülről lefelé haladva) a MIP-et (Maximum Intensity Projection), valamint 2 axiális átmetszetet, egyet a primer tumor magasságában, egyet pedig a halmozó axilláris nyirokcsomó magasságában. A nyilak a staging vizsgálaton detektált metabolikusan aktív tumort jelzik a jobb emlőben, valamint az axilláris régióban talált FDG-avid áttétet.

Az interim vizsgálat egyértelmű metabolikus remissziót mutatott mind a tumor ($\Delta\text{SUV}=66,3\%$), mind az axilla területén ($\Delta\text{SUV}=77,4\%$), szemben a morfológiai válasszal, mely csupán az axillát tekintve mutatott egyértelmű regressziót (méret

csökkenés: 41%), a primer tumort tekintve RECIST szerint stabil betegséget láttunk a tumorméret változásának szempontjából (25%). (35. táblázat)

A 6. ciklus végén, a műtét előtt ismételt, restaging PET/CT történt, mely a primer tumor esetén PERCIST szerint komplett remisszió mellett morfológiai szempontból stabil betegséget írt le. Az axilla esetén reziduális FDG-felvétel mellett a nyirokcsomók mérete már nem érte el a patológiás mérethatárt. (16./C ábra)

A tumor sebészeti eltávolítása után (betegpreferencia alapján BCS + ABD történt) a primer tumort tekintve pCR-t találtunk (Chevallier I, Sataloff T-A, EWBPSG szerint TR1), mindössze fibrotikus-nekrotikus maradványokkal a korábbi daganat területén. Az ABD specimen 10 nyirokcsomójából két esetben reziduális invazív daganat igazolódott (2/10, Sataloff N-D, EWBPSG szerint NR3), mely az ismételt IHC vizsgálatok alapján grade 3, tripla negatív IDC volt, igen magas, 80%-os Ki-67 index-szel, 100 % p53 mellett.

35. táblázat. A SUVmax és a méret változása a PST során – staging, interim és restaging képalkotás FDG-PET/CT-vel

<i>PET/CT vizsgálat</i>	<i>Primer tumor</i>		<i>Axilla</i>	
	<i>SUV</i>	<i>méret</i>	<i>SUV</i>	<i>méret</i>
Staging PET	15,7	40x32	17,7	17x22
Interim PET	5,3	30x24	4,0	10x16
Restaging PET	1,7	29x19	2,5	10x12
Interim válasz	Δ SUV=66,3% ~ PR [†]	méret Δ =25% ~ SD [‡]	Δ SUV=77,4% ~ PR [†]	méret Δ =41% ~ CR [‡]
Teljes válasz	Δ SUV=89,2% ~ CR [†]	méret Δ =27,5% ~ SD [‡]	Δ SUV=85,9% ~ PR [†]	méret Δ =41% ~ CR [‡]

[†]PERCIST szerint [‡]RECIST szerint

A műtéti szövettan alapján az onkoteam további adjuváns kemoterápiát, valamint kiegészítő sugárterápiát indikált. A beteg az utánkövetés idején (2015.09.15.) tumormentes, a PFS (OS) 69 hónap.

Kiemelendő, hogy vizsgálatunk során a terápiát megelőző core-biopsziás mintát retrospektív módon újraértékeljük a 3.1. fejezetben bemutatott módszerekkel: az ismételt értékeléssel 20%-os Ki-67 mellett 75%-os MCM2 és 20%-os Ciklin A expressziót valamint 72 mitózis /10>NNL PHH3 indexet találtunk.

5. Megbeszélés

5.1. Tumorproliferáció, mint prediktív marker a PST során

Jelen vizsgálatunkban négy, a sejtciklus különböző fázisait reprezentáló fehérje expresszióját vizsgáltuk hagyományos és digitális metszeteken, célunk volt, hogy a digitális patológiai módszerek alkalmazásával csökkenthessük a rutin vizuális analízist jellemző magas intra- és interobszerver variabilitást, és rövidebb idő alatt nagyobb számú minta megbízhatóbb és reprodukálhatóbb elemzését tegyük lehetővé [43-47].

A HistoQuant szoftverrel végzett computer-asszisztált (CA) értékelés validálására kézi jelölést használtunk. A CA pontos, gyors és könnyen alkalmazható módszernek bizonyult még nagyszámú minta esetében is, azonban a vizsgált régió kijelölése, különösen a strómális elemek aránya befolyásolta a CA analízis eredményét.

A rutin vizuális értékelés (VA) és a CA értékelés kiváló korrelációt mutatott, noha a VA rendre magasabb expressziós értékeket írt le, mint a CA analízis.

Az emlőpatológiában kisszámú vizsgálat áll rendelkezésre a digitális patológia hatékonyságának értékelésére. A sejtciklus markereinek vizsgálatában a Ki-67 index computer-asszisztált analízisével születtek eredmények [47,208-212]. Az irodalomban fellelhető, egymáshoz igen hasonló szoftvereket alkalmazó digitális patológiai értékelési módszerek a vizuális humán értékelésnél rendre alacsonyabb festődési indexet eredményeztek [209,210]. A jelenség hátterében a normál stróma és az esetenként jelenlévő gyulladással sejtek pontatlan jelölését feltételezhetjük, melyet a kézi jelöléssel végzett validálás saját kutatásunkban is bizonyított: a hematoxilinnal jelölt tumorsejtek esetén észlelt fals pozitív arány minden markernél hozzájárult a CA pontatlanságához, különösen a Ki-67 és MCM2 esetében. Hasonlóan a tanulmányunkban alkalmazott szoftverhez, a fenti vizsgálatok esetében sem volt része a programcsomagnak a tumorsejteket precízen azonosító applikáció, így minden, a ROI-ba eső, megadott mérettartományon belüli sejtet megszámol az algoritmus az értékelés során [209,210]. Következésképpen, a manuális ROI kijelölése kiemelten fontos része az értékelésnek, célja, hogy csak tumorszövetet tartalmazó minta kerüljön CA analízis alá, így minimalizálva a nem festődő sejtek számának túlbecslését. Emellett a CA eredménye nagyban függ a szoftver előre beállított paramétereitől, így az algoritmus ellenőrzése és utánállítása kötelező elem, konstans beállítások csak ugyanazon antitest ugyanazon protokollal festett metszeteinél alkalmazhatóak [46,210].

Mind a CA mind a VA analízist befolyásolhatja a hematoxin magfestés erőssége [211]. Dowsett bizonyította, hogy a gyenge magfestés az ellensúly hiánya miatt a VA során a Ki-67 festődés túlbecslését eredményezi [16]. A pozitív sejtek a vizsgáló figyelmét eleve könnyebben felkeltik, mint nem festődő társaik, mely jelenség önmagában is okozhat konzekvensen magasabb VA értékeket [209]. Azonban a túl erős magfestés hátrányosan érintheti a CA analízist, a negatív sejtek számának túlbecslése miatt [213]. Emellett a VA előnye, hogy a tumor által nem érintett, strómális területet, festődési hibákat vagy műtermékeket a gyakorlott patológus hatékonyan képes kizárni az elemzésből, szemben a CA analízissel [210,213]. A legújabb, tesztelés alatt álló korszerű szoftverek képesek a festődés detektálása mellett annak intenzitását is értékelni, valamint a tumorsejteket a környező normál szövetből, vagy a strómától elkülöníteni [208].

Vizsgálatunkban a Ki-67 mellett értékeltük a CA alkalmasságát az MCM2, a Ciklin A és a PHH3 expressziójának értékelésében is, emlődaganatok esetében elsőként. Az alkalmazott CA analízis a kézi validálással alkalmasnak bizonyult minden marker esetében a további analízisre. A pozitív sejteket hatékonyan azonosította a használt CA analízis, azonban a negatív sejtek arányát jellemzően túlbecsülte a mintában, különösen a Ki-67 és MCM2 markerek esetében. Ebből kifolyólag, hasonlóan a Ki-67-nél már leírtakkal, a CA mérések minden marker esetén rendre alacsonyabbak voltak a VA értékelés eredményeinél.

Méréseink során az eleve alacsonyabb átlagos festődést mutató Ciklin A és a PHH3 esetén a CA és VA értékelés közti különbség minimálisnak bizonyult, e markereknél a CA értékelés a VA-el egyenértékűnek bizonyult. Ez ellentmond Konsti és munkacsoportja eredményeivel, akik a CA értékelést pontatlanabbnak találták a kevés pozitív tumorsejtet tartalmazó minták esetében, ahol a nem festődő tumorsejtek és a strómális elemek aránya nagyobb volt [210]. Vizsgálatunkban a Ki-67 és MCM2 tekintetében – melyek a PST-t megelőző mintákban átlagosan nagyobb expressziót mutattak, mint a Ciklin A vagy a PHH3 – szignifikáns volt a CA és VA módszerek közötti különbség. Emellett az MCM2 esetén a CA és VA analízis eredményei közti különbség lineáris összefüggést mutatott a marker expressziójával: magasabb MCM2 szint esetén nagyobb volt a különbség a két módszerrel mért értékek között, mint amennyit az átlagos különbség alapján vártunk volna.

A fenti eredmények, a kézi validálás tükrében, a vizuális értékelés ellentmondásosságával magyarázhatóak. A pozitív sejtek könnyebben felkeltik a

vizsgáló figyelmét, így hajlamos túlbecsülni azok jelenlétét a mintában, különösen akkor, ha azok eleve nagy számban vannak jelen a metszeten. A magasabb festődési indexű anyagokat a VA rendre túlértékeli [209], különösen, ha relatív gyenge hematoxilinnel magfestést alkalmazunk [16]. Emellett a magas expressziót mutató metszetek esetleges háttérfestődése szintén negatívan befolyásolja a CA, és pozitívan hat a VA analízisre. Így ismételten hangsúlyoznunk kell, hogy a CA analízis pontosságát nagymértékben befolyásolja a ROI kijelölése, így fontos, hogy ezt gyakorlott patológus vagy technikus végezze. Ez az értékelés szempontjából hátrányosan érintett régiók (nagy strómális sejt tartalmú, festődési műterméket tartalmazó vagy háttérfestődéssel érintett) analízist torzító hatását csökkentheti.

A CA és VA értékelés eredményeinek pCR-re mutatott prediktív értékéhez a vágópontokat ROC analízissel vizsgáltuk. A nemzetközi irodalom számos eltérő prognosztikus vágópontot ajánl a Ki-67 LI esetében (3,5-35%-ig igen sok alternatív vágópont fellelhető) [17]. A prediktív vágópont szintén széleskörben vitatott, a St. Gallen konszenzus 20%-ot tartja megfelelőnek a magas és alacsony osztódású daganatok elkülönítésére: a magas expressziós kategóriába sorolt tumorok általában kedvezően reagálnak a PST kezelésre. [20]. A tumorválasz (teljes vagy partiális) tekintetében publikált multicentrikus tanulmány a 18%-ot tekinti prediktívnek [205], azonban a pCR-t tekintve a kritériumok szigorúbbak. MacGrogan és munkacsoportja a 40%-os cut-off-ot találta megfelelőnek a pCR becslésére [214]. Fasching és munkacsoportja 13%-os vágópontot talált prediktívnek a pCR és OS tekintetében, de a pCR-re önmagában már csak a magasabb, 30-40% közötti prediktív vágópont mutat kellő pontosságot [18]. Mindezen eredmények alapján a Ki-67 esetén kimondható, hogy univerzális vágópont alkalmazása nem ajánlható a klinikai gyakorlatban, érdemes meghatározni a vizsgált betegpopulációra és festési protokollra ajánlható egyedi vágópontokat [21,209,215]. Vizsgálatunkban Ki-67 LI esetén a 45%-os (VA) illetve 47,5%-os (CA módszer) vágópontot találtuk prediktívnek a pCR-re.

Az MCM2, a Ciklin A és a PHH3 tekintetében csupán prognosztikus vágópontok fellelhetőek a nemzetközi irodalomban. Ez MCM2 esetén a 30%-os vágópontot jelenti [22], Ciklin A esetén 8-10,5% [30,33] közötti értékeket publikáltak, míg PHH3 esetén 13 mitózis/10 NNL felett [36] társul az expresszió rosszabb prognózissal. Vizsgálatunkban e markerek prediktivitását értékeltük a pCR-re, a kapott vágópontok a következőképpen alakultak (a VA és CA módszer szerinti cut-offot is felsoroljuk):

MCM2 esetén 47,5% és 42,8%, Ciklin A esetén 27,5% illetve 28,8%, valamint PHH3 esetén 36 feletti mitózisszám bizonyult prediktívnek a pCR-re.

Az így kalkulált vágópontok mentén magas illetve alacsony expressziós kategóriákba soroltuk eredményeinket. A rekatégorizált markerek esetén a CA és VA eredmények nagyobb egyezést mutattak, valamint a CA értékelés esetén a “magas” festődési kategória a pCR kiváló prediktorának bizonyult mind a négy markernél.

A PHH3 esetén kiemelendő, hogy a PHH3-index pontosabbnak bizonyult a pCR becslésében, szemben a CA vagy VA módszerrel mért százalékos festődési index-szel. A PHH3 index az M-fázis megbízható markere [34-36] és a rutinszerűen használt mitózis-indexnél erősebb prognosztikai faktor [37], azonban meghatározása időigényes. Amennyiben a CA értékeléssel kapott eredményeket a ROC alapján leírt vágópont szerint dichotomizáltuk, eredményeink a pCR-re prediktívek voltak és pontosságuk elérte a PHH3 index-el találtakat. Így a PHH3 expresszió CA értékelése, a megfelelő optimális vágóponttal végzett dichotomizálás után, alkalmas a mindennapi gyakorlatban a pCR előrejelzésére, hasonlóan a PHH3 index-hez, azonban a CA értékelés végzése időt és energiát takaríthat meg.

A klinikopatológiai tulajdonságok és a Ki-67 marker expressziója közötti összefüggéseket számos tanulmány vizsgálta, azonban a többi, sejtciklust jellemző marker esetében csak korlátozottan állnak rendelkezésre információk a klinikopatológiai tulajdonságokkal mutatott összefüggések tekintetében.

A tumorméretet tekintve a core-biopsziák vizsgálatakor a klinikai T1-2 stádiumú daganatok esetén mind a négy marker magasabb expressziót mutatott, mint a T3 és T4 tumorok esetén (az összefüggés MCM2 esetén szignifikáns volt). Az axilláris régió érintettsége esetén (cN1-3) ugyan nem szignifikánsan, de minden sejtciklus marker magasabbnak bizonyult, mint cN0 esetén. Az irodalmi adatok a T és N stádiummal mutatott összefüggés tekintetében minden marker esetén ellentmondásosak. Wiesner és munkacsoportja több mint 1000 beteg vizsgálata során szignifikáns összefüggést írt le mind a lokális kiterjedtség mind az axilla érintettsége és a Ki-67 magas expressziója között [216], míg több tanulmány csupán a T stádiummal talált szignifikáns korrelációt [217]. Az MCM2 expressziója összefüggést mutat a tumormérettel, de nem függ össze a nyirokcsomó pozitivitással [37], hasonlóan a PHH3-hoz [36]. A Ciklin A esetében egyes tanulmányok nem találtak összefüggést a tumormérettel valamint az axilláris érintettséggel [33], míg mások a T stádiumot illetően pozitív összefüggést írtak le [30,32].

A szövettani tulajdonságokat tekintve IDC esetén szintén magasabb sejtciklus aktivitást találtunk, mint az egyéb, a betegcsoportban előforduló szövettani típusokban (statisztikai összehasonlítást az utóbbi betegcsoport alacsony létszáma miatt nem végeztünk), a korábbi irodalmi eredményekhez hasonlóan [197,216].

A high grade daganatokban mind a négy vizsgált sejtciklus marker magasabb expressziót mutatott, mely az irodalmi eredményekkel egyezik [33,36,37,218,216]. Fontos leszögezni, hogy a Ki-67 index alkalmas lehet a grade 2, bizonytalan agresszivitású daganatokon belüli prognosztikus alcsoportképzésre is [216].

Az ER- és PR- daganatok esetén a PHH3 kivételével minden marker magasabb expressziót mutatott, mint a hormon receptor pozitív tumorokban. Mind a Ki-67 [216,217,219], mind az MCM2 [37], mind a Ciklin A [30,32,33] és a PHH3 [37,36] esetén leírták az ER negativitás és a magasabb proliferációs marker expresszió közötti összefüggést.

Vizsgálatunkban a Her2-pozitivitással egyik vizsgált paraméter sem mutatott összefüggést. A korábbi adatok nem egyértelműek a Ki-67 és a Her2 expresszió viszonyát tekintve, egyes vizsgálatok pozitív korrelációt írtak le, míg más vizsgálatok nem találtak kapcsolatot a két marker között [197,216]. MCM2 illetve Ciklin A esetén hasonló ellentmondásosság áll fenn [32,33,37,197]. A PHH3 expresszió nem mutat összefüggést a Her2-pozitivitással [197], azonban pozitívan korrelál a nukleáris atípiá mértékével és fordítottan a tubulus formáló képességgel [36,37].

A biológiai szubtypust tekintve mind a négy marker magasabb expressziót mutatott tripla negatív tumorokban, míg a luminális A szubtypus esetén detektáltuk a legszerényebb sejtciklus aktivitást a core-biopsziás mintákban. Az MCM2, Ciklin A és PHH3 esetén a biológiai szubtypusokkal mutatott összefüggést még nem vizsgálták. A kedvezőbb prognózisú luminális A daganatok definíciószerűen is alacsony, 14% alatti Ki-67 expresszióval (és PR pozitivitással) jellemezhetőek [20,40]. Esetükben a pCR elérésének esélye csekély [20,220], ezt saját betegcsoportunk eredményei is jól tükrözik. A Ki-67 fokozott expressziója a high grade, tripla negatív, IDC szövettani típusú daganatok között képes definiálni egy magas pCR arányú, de mégis rossz prognózisú alcsoportot [221,222].

Különösen fontos hangsúlyozni, hogy mind a négy vizsgált marker tekintetében szignifikáns korrelációt találtunk a magas grade-el illetve a biológiai szubtypussal, legfőképp a tripla negativitás előfordulásával. ROC analízissel vizsgáltuk, mely marker mutatja a legerősebb összefüggést e klinikai tulajdonságokkal, mindkét esetben a Ki-67

és az MCM2 bizonyult a legpontosabb prediktoroknak. Mivel mindkét marker expressziója nagy pontossággal jelezte előre a pCR-t is, így ajánlhatóak a mindennapi gyakorlatban a biológiailag agresszívebb, de terápiára jól reagáló daganatok elkülönítésére.

A reziduális daganatok esetében a Ki-67 mutatott egyedül korrelációt a grade-el. Her2-pozitív és tripla negatív daganatok elenyésző számban fordultak elő a non-pCR csoportban, hasonlóan a korábbi irodalmi eredményekhez, a betegcsoportban domináltak a lúminális karakterű daganatok[20]. Az előforduló biológiai szubtypusok (dominálón lúminális daganatok) mindössze az MCM2 és Ciklin A markerek alacsony expressziója alapján voltak jól elkülöníthetőek egymástól. A Lúminális B/proliferatív karakterű reziduális daganatok a proliferációs aktivitást tekintve a többi lúminális tumortól jelentősen elváltak.

5.2. FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében

Az FDG-PET/CT emlődaganatok esetében mind a staging, mind a terápiás válasz mérésére alkalmas modalitás. Staging vizsgálatok esetén a daganatok radiofarmakon felvételét legjobban jellemző paraméter megválasztása okozza a legnagyobb dilemmát. Az FDG-felvétel pontos kvantifikálására a dinamikus vizsgálatok alkalmasak, azonban ezek kivitelezése és értékelése a rutin diagnosztikának nem része. Emlődaganatokban saját kutatásaink alapján a szemikvantitatív paraméterek közül a SUVmax jól alkalmazhatónak bizonyult a tumor metabolikus aktivitásának jellemzésére és igen jó összefüggést mutatott a daganatok klinikopatológiai jellemzőivel is.

A terápiás válasz mérésére jelenleg nem áll rendelkezésre széleskörben, standard módon, a mindennapi rutin részeként alkalmazott válaszmérő kritériumrendszer. A disszertációban bemutatott kutatásaink során a tumorválasz jellemzésére jelenleg rendelkezésre álló válaszmérő skálák alkalmazhatóságát értékeltük a PET/CT vizsgálatok értékelésében. Eredményeink alapján két újszerű score rendszert készítettünk, melyek hatékonyságát teszteltük a tumor biológiai viselkedése szempontjából eltérő emlődaganatos betegcsoportokban. Emellett a restaging vizsgálatok időzítésében sincs konszenzus, a terápiaközi, ún. interim képzalkotás helye a diagnosztikus algoritmusban emlődaganatok esetén nem tisztázott, kutatásaink során a terápiaközi, ún. „interim” vizsgálatok helyét is vizsgáltuk a diagnosztikus algoritmusban.

5.2.1. Válaszmérő score rendszerek alkalmazhatósága a PST során

Vizsgálatunkban lokálisan előrehaladott daganatok esetén értékeltük a staging vizsgálatokon rögzített metabolikus és morfológiai paraméterek valamint a klinikopatológiai tulajdonságok összefüggéseit, különös tekintettel a tumorproliferációra, mely ebben a betegcsoportban igen erős prediktív és prognosztikus marker. A betegcsoportban domináltak a high grade daganatok (69% grade 3 volt), a léziók 85,7%-a T2-nél magasabb stádiumú volt, és több mint kétharmaduk érintette az axillát. A daganatokat 88,1%-ban magas Ki-67 index jellemezte, egyharmaduk tripla negatív, egynegyedük Luminális B/Her2-negatív daganat volt. A betegcsoport jól reprezentálta a PST kezelésre alkalmas betegek csoportját.[51]

Hasonlóan korábbi eredményeinkhez és a nemzetközi irodalomban leirtakhoz, a vizsgált betegek esetén igen jó összefüggést találtunk az FDG-felvétel és a Ki-67 index között [148-150,158,160,164]. A terápiát megelőző FDG-felvétel a tumor eredeti

mérete között is szignifikáns összefüggést találtunk, a kisebb méretű daganatok esetén szerényebb FDG-aviditás mutatkozott. E tekintetben az irodalmi adatok ellentmondásosak (a daganatok mérete és FDG-felvétele közötti összefüggést több kutatócsoport bizonyítottanak találta [124,150,151], míg mások nem találtak szignifikáns összefüggést a paraméterek között [148,149]). A biológiai szubtípus és az FDG-felvétel összefüggéseit az 5.3. fejezetben tárgyaljuk részletesebben.

A pCR arány igen kedvező volt a vizsgált betegcsoportban, a nemzetközi irodalomban fellelhető 4-27%-os pCR arányhoz képest 42,9% volt a komplett remissziót elért betegek aránya, míg 83,3%-ban találtunk patológiai választ (pCR vagy pPR) a kezelés hatására (mely 70% körül mozog a nemzetközi adatok alapján) [223,224]. A pCR-t elért betegek esetén a kiindulási Ki-67 index, valamint a kezdeti SUVmax magasabb volt, mint a non-pCR betegcsoportban. A kezdeti tumorméret azonban nem mutatott összefüggést a terápiás válasszal. A magasabb kiindulási Ki-67 LI bizonyítottan jó prediktora a kedvező tumorválasznak [225]. A magasabb kezdeti FDG-aviditást is leírták, mint kedvező prediktív faktort a PST esetén [226,227].

A pCR-t elért betegek esetén a terápiás választ jól előrejelezte a restaging PET/CT vizsgálat: mind a tumorméret, mind a SUVmax szignifikánsan alacsonyabb volt (ha egyáltalán mérhetőek voltak), mint a non-pCR betegcsoportban. A PST után mért alacsony SUVmax igen jó prediktora a kedvező tumorválasznak [125,228,229]. Amennyiben reziduális DCIS-t találtunk, abban a daganatsejtek proliferációs aktivitása igen szerénynek bizonyult. Mind a SUVmax, mind a tumorméret, mind a Ki-67 változása szignifikáns prediktora a pCR-nek, illetve a kedvező patológiai válasznak.

A klinikai komplett remissziót, azaz a képalkotóval detektált komplett választ mind morfológiai mind metabolizmus szempontjából értékeltük. A morfológiai komplett remissziót 47,6%-ban találtunk, metabolikus komplett remissziót a daganatok 66,7%-a mutatott, míg a valódi pCR 42,9%-ban volt jelen. A PST után a nemzetközi adatok alapján a klinikai komplett remisszió aránya 7-65% között mozog [224].

A klinikai válasz értékelésére több score rendszer áll rendelkezésre, melyek a tumorválaszt jellemzően CR-PR-SD és PD kategóriákba sorolják (ld. 1.3.6. fejezet). A score rendszerek alkalmazásának előnye egyértelmű. Különösen a tumorméret meghatározása során szükséges szigorú és objektív kritériumok alkalmazása (a mérhető és nem mérhető elváltozások besorolására, illetve a progresszió értékelésére), melyek kiküszöbölhetővé tehetik az vizsgáló szubjektivitását a tumor válasz besorolása során. Kutatásunk során vizsgáltuk e válaszmérő rendszerek és a patológiai tumorválasz

jellemzésére használt Chevallier illetve Sataloff osztályozás közti korrelációt. A Ki-67 index esetében is segítheti a reziduális daganatok tumorválaszának értékelését egy, a klinikai tumorválasz értékelésében alkalmazott score-okhoz hasonló rendszer bevezetése, mely csökkentheti a marker meghatározása során ismert magas intra- és interobszerver variabilitás eredményre gyakorolt hatását [19], valamint ellensúlyozhatja az optimális prediktív vágópontot illető konszenzus hiányát (ld 5.1. fejezet). Ezt alátámasztja Denkert és munkacsoportjának felvetése is, mely szerint a Ki-67-et, mint folyamatos változót kellene kezelnünk [230], hasonlóan a tumorválasz metabolikus és morfológiai paramétereikhez. Vizsgálatunkban értékeltük egy újszerű, a Ki-67 LI változását értékelő score összefüggéseit a klinikai tumorválaszt értékelő skálákkal.

A klinikai tumorválasz értékelése során, a jelenleg érvényben lévő PERCIST és RECIST rendszer alkalmazása objektív válaszmérésre adott lehetőséget, a felmerülő gyakorlati kérdéseket e kritériumrendszerek az EORTC és WHO kritériumoknál pontosabban tisztázták. A patológiai válasszal a RECIST és WHO score eredményei, azaz a morfológiai válasz mutatta a legerősebb összefüggést. Ez ellentmond a metabolikus és morfológiai válasz direkt összehasonlítása során tapasztaltakkal: a ROC analízis alapján a tumorméret változása szerényebb összefüggést mutatott a pCR-rel, mint a SUVmax csökkenése. A bevezett Ki-67 score nem mutatott erős összefüggést a patológiai válasszal, azonban jó összefüggést mutatott a PERCIST rendszer alapján besorolt remisszióval, de szintén erősebben korrelált a morfológiai válaszkategóriákkal.

Hangsúlyozandó továbbá, hogy a PERCIST rendszer összetettsége miatt a hétköznapi gyakorlatban nem terjedt el, a RECIST kritériumok pedig csak korlátozottan alkalmasak a PET/CT vizsgálatok során a tumorválasz értékelésére. Emiatt bevezettünk egy kettős, egyszerűsített válaszkategóriákat alkalmazó értékelést (komplett remisszió vs. egyéb tumorválasz). Az új, kettős válasz kategóriák szerinti értékeléssel a PERCIST szerinti klinikai CR és a pCR valamint a tumor proliferációs aktivitása közti korreláció javult. A morfológiai választ tekintve a RECIST szerinti klinikai CR mind a pCR elérésével, mind a metabolikus válasszal jól összefüggött. A kettős válaszkategóriák alkalmazása tehát a PERCIST hatékonyságának emelése mellett a morfológiai kritérium rendszerek, főként a RECIST fontosságát továbbra is hangsúlyozta, de a kiértékelést jelentősen gyorsította.

A fenti tapasztalatok alapján létrehozott két új, egyszerűsített PET/CT kiértékelési módszer hatékonyságát vizsgáltuk tovább Her2 overexpresszáló tumoroknál és egy nagyobb, szubtípus szerint heterogén betegcsoportban.

5.2.2. Válaszmérés Her2 overexpressziót mutató daganatokban

A Her2 pozitív, lokálisan előrehaladott emlődaganatok primer szisztémás terápiájában (PST) az utóbbi egy évben már Magyarországon is elérhetővé váltak a mindennapi gyakorlat számára a trastuzumab tartalmú protokollok. Nemzetközi irodalmi adatok alapján a trastuzumab hozzáadása a neoadjuváns protokollhoz növeli a pCR-t elérő betegek arányát, valamint a terápiára reagáló betegek arányát is [67] (ld. 7. táblázat). Saját eredményeink a mindennapi gyakorlatban is igazolták a trastuzumab tartalmú protokollok előnyét: a pCR aránya 47%-volt szemben a 2013 előtt kezelt, standard kombinált kemoterápiában részesült betegek esetén tapasztalt 38,5%-os pCR rátával. Emellett elmondható, hogy a vizsgálatunkban tapasztalt 47%-os pCR arány kedvezőbbnek bizonyult a klinikai vizsgálatok esetén talált értékeknél is - a NOAH esetén 43% [67], a GeparQuattro esetén 31,7%-os pCR rátát írtak le [231].

Értékeljük a pCR-t elért betegcsoportban a daganatok klinikopatológiai tulajdonságait is. Szemben a korábbi eredményekkel [51], a pCR betegek esetén nem találtunk magasabb kiindulási Ki-67 indexet, de a Ki-67 LI csökkenése szignifikáns volt a kezelés hatására. Emellett nem volt szignifikánsan magasabb a pCR-t elért daganatok kiindulási grade-je sem, bár az elmondható, hogy a trastuzumab kezelést is kapó betegek esetén minden pCR-t elért beteg grade 3 daganattal bírt.

A Her-2 pozitív szubtypusba tartozó betegeknél a pCR gyakoribb volt, mint a Luminális B/Her2-pozitív betegcsoportban. Ez a megfigyelés összecseng e két szubtypus irodalomban is leírt eltérő biológiai viselkedésével (ld. 7. táblázat) [68,69]. A Luminális B/Her2-pozitív betegcsoport ritkán vizsgált csoportja a Her2 pozitív daganatoknak, noha ebben a csoportban kettős célzott kezelés (hormon és anti-Her2 terápia) egyaránt alkalmazható. A Her2-pozitív betegek esetén a pCR biztosan kedvező prognosztikus értékkel bír, míg a Luminális B/Her2-pozitív betegeknél ez az összefüggés nem egyértelmű [232], így a pCR, mint terápiás végpont, nem tűnik egységesen alkalmazhatónak a Her2 overexpresszáló daganatokban. Míg ez a kérdés megnyugtatóan nem tisztázódott, a Luminális B/Her2-pozitív, primeren rezekábilis daganatok esetén a műtéti kezelés prioritást élvez a PST-vel szemben. Ebben a betegcsoportban a PST indikációjának evidenciaszintje alacsonyabb, a PST csupán lokálisan előrehaladott vagy gyulladáshoz vezető emlődaganat esetén tűnik indokoltnak, downstaging céljából, vagy BCS kivitelezhetőségére [56,57]. Mindaddig ez a

megközelítés javasolható, míg a Luminális B/Her2-pozitív csoportban nem találjuk meg azt a biomarkert, mely a pCR elérésére prediktív alcsoportképzésre felhasználható.

A patológiai választ 2 csoportra bontottuk (pCR és non-pCR), klinikai elkülönítésükben vizsgáltuk az FDG-PET/CT hatékonyságát. A bevezetésben (1.3.5.6. és 1.3.5.7. fejezetek) már bemutattuk a PET/CT vizsgálatokra a Her2 overexpressziót mutató betegcsoportban jellemző ellentmondásokat. A trastuzumab alkalmazása mellett fontos újra értékelnünk a vizsgálat teljesítőképességét, mivel e biológiai terápia hatással lehet az FDG-felvételre, így a képalkotás pontosságára is.

A Her2-overexpresszáló tumorok esetén limitált számú önálló vizsgálat áll rendelkezésre a PET/CT vizsgálat hatékonyságával kapcsolatban, különösen a neoadjuváns trastuzumab terápia követésében. Preklinikai vizsgálatokban a PET alkalmas volt a trastuzumab által kiváltott terápiás válasz mérésére [141], azonban a klinikai eredmények már ellentmondásosabb képet mutatnak. Ennek oka lehet a biológiai terápiák esetén feltételezett interferencia az FDG-metabolizmussal, mely a citotoxikus terápiák esetén sokkal korlátozottabban van jelen (ld. 1.3.5.6 fejezet). Ennek ellenére a PET/CT-t több munkacsoport alkalmasnak találta a korai válasz értékelésére, és igazolták prediktivitását a pCR-re, kemoterápiát követő trastuzumab kezelés és konkomittáns terápiák esetében is [142-144]. Mindemellett, a Her2 overexpresszáló daganatokban nem írható le olyan egyértelmű az összefüggést a Δ SUV és a pCR között, mint tripla negatív tumorokban, különösen a korai válasz mérése után. Groheux és munkacsoportja 2 ciklus PST után a pCR-re prediktívnek találta a legalább 62%-os SUV csökkenést, míg a 3,0 feletti SUV_{max2} a reziduális betegségre volt kórjelző. Azonban kiemelendő, hogy a munkacsoport 4 epirubicin-cyclophosphamidot követő 4 taxán-trastuzumab kezelési protokollt alkalmazott, így az első 2 ciklus utáni válasz tisztán citotoxikus terápiára mutatott reakciót jelentett [143]. Humbert trastuzumab-docetaxel neoadjuváns kezelés 2 ciklusa után végezte a válaszmérést. Noha pozitív összefüggést talált a Δ SUV és a pCR között, de alcsoportanalízis során már nem talált szignifikáns a kapcsolatot: a kezdetben alacsony SUV_{max}-ú tumoroknál (<3,7), azaz ahol a kezdeti tumor:háttér arány 5-nél alacsonyabb, a Δ SUV korai válaszban betöltött szerepe korlátozott [142]. Hatt a Δ SUV és a pCR között szignifikáns összefüggést talált szubtípus szempontjából heterogén betegcsoportban, de a HER2 pozitív alcsoport analízise esetén már nem volt szignifikáns az eredmény [146].

Saját vizsgálatunkban mindkét kezelési csoport a PET/CT alapján jó metabolikus választ mutatott a PST hatására, szignifikánsan csökkent a daganatok FDG-felvétele és

mérete is. A kezdeti FDG-felvétel a standard kezelés mellett pCR-t elérő betegekben magasabb volt, mint a non-pCR csoportban. Azonban a SUVmax változása egyik kezelési csoportban sem mutatott szignifikáns összefüggést a pCR elérésével, de a trasztuzumabot is kapott csoportban a szignifikancia közeli különbséget detektáltunk.

Az FDG-PET/CT-vel összehasonlítva vizsgáltuk a konvencionális képalkotás, jelesül az emlő-UH hatékonyságát is a pCR-/non-pCR betegcsoportok elkülönítésében. A rutinszerűen alkalmazott emlő-UH a reziduális daganatokat pontatlanul detektálta, alulmaradt a PET/CT-vel szemben. Elmondható, hogy mindkét kezelési csoportban jelentősen magasabb volt a fals pozitív esetek száma az UH-al végzett válaszmérés során, mint PET/CT esetén. A PET/CT mind az egyszerűsített PERCIST kritériumok szerinti, mind pedig az újszerű, a PERCIST mellett a RECIST értékelést is figyelembe vevő, komplett remisszióra vonatkozó definíciót használó kiértékelés szerint is pontosabbnak bizonyult a pCR és a reziduális daganat elkülönítésében, magas pozitív prediktív értékkel (PPV). Csak a viabilitást vizsgálva (első PET kiértékelési módszer) a PPV magasabbnak bizonyult, azonban a fals negatív esetek száma is magasabb volt. A kombinált kiértékelés igen pontosan különítette el a pCR és non-pCR betegcsoportot mindkét kezelési séma esetén.

Összefoglalva, mindkét kezelési csoportban igen jól teljesítettek az új kritériumrendszerek a terápiás válasz mérésében. Emellett bizonyítottuk, hogy a módosított RECIST rendszer szerinti besorolás hozzáadott értékkel bír a PET/CT vizsgálatok értékelése során a terápiás válasz pontos meghatározásában.

A vizsgálat eredményeinek értékét csökkentheti az alsócsoportok alacsony betegszáma, így nem végeztünk további analíziseket a Her2-pozitív és a Luminális B/Her2-pozitív daganatok FDG-akkumulációjának különbözőségének vizsgálatára. Azonban ebben a tekintetben Groheux és Humbert munkacsoportja nem talált eltérést e két betegcsoport között [142,143]. Emellett fontos leszögezni, hogy a mindössze per os kontrasztanyagot használó CT vizsgálat csupán korlátozottan alkalmas a RECIST értékelésre, azonban a komplett remissziót elért esetek elkülönítésére jól használható, így vizsgálatunkban alkalmazása indokolt volt.

5.2.3 Biológiai szubtipusok hatása a tumorválasz értékelésére

A Her2 overexpressziót mutató betegcsoportban bemutatott új értékelési módszerek hatékonyságát nagyobb, a biológiai szubtipus szempontjából heterogén betegcsoportban is vizsgáltuk. A 71 vizsgált betegben a pCR ráta 32,4% volt, leggyakrabban a triple

negatív és Her2-pozitív szubtypusú daganatok mutattak komplett tumorválaszt, hasonlóan a nemzetközi irodalomban található adatokhoz. [51]

Az FDG-PET/CT vizsgálatok hatékonyan különítették el a pCR és non-pCR betegcsoportot. Vizsgáltuk a PET/CT hatékonyságát nem csupán a primer daganatok, de az axilláris régió esetében is a terápiás válasz mérésében. A primer daganatok esetében, noha eredményeink aláhúzták a metabolikus válasz jelentőségét a tumorválasz mérése során, de kiemelték a kombinált válaszmérés előnyeit: mind a SUVmax, mind a méret változása alapján szignifikánsan különbözött a pCR és non-pCR betegcsoport ($p=0,000012$ és $p=0,00016$). Az axilláris régióban csupán a SUVmax változása volt szignifikánsan nagyobb a pCR csoportban ($p=0,0233$), a morfológiai remisszió tekintetében nem volt különbség a pCR és non-pCR betegek között. Az axilla tekintetében az FDG-PET/CT alkalmazhatósága vitatott, de a lokális kiterjedés mérésében pozitív prediktív értéke jelentős [128,233]. Negatív FDG-PET/CT esetén az ABD mellőzhető, de az SLNB nem elhagyható [125]. Emellett hangsúlyozandó, hogy az axilláris nyirokcsomók régióban a méretváltozás, mint prediktív marker, körültekintéssel kezelendő.

Az alkalmazott válaszmérő kritériumok tekintetében az egyszerűsített PERCIST (PET/CT 1. módszer) szerinti értékelés és a kombinált, PERCIST és RECIST kritériumokat is figyelembe vevő definíciók (PET/CT 2. módszer) egyaránt magas pontossággal jelezték a pCR-t, magas PPV mellett. A kombinált kritériumok a reziduális betegséget szenzitívebben jelezték (75% vs 43,7%), esetükben az NPV is magasabb volt az 1. módszerrel szemben (60% vs 43,7%). A 2. módszer esetén a specificitás és a PPV is magas maradt (87,8% és 78,3%), és a fals negatív esetek száma is csökkent. Eredményeinket összevetettük két metaanalízis adataival [134,137]. Az 1. módszer (módosított PERCIST értékelés) hasonló, illetve jobb PPV-t és specificitást mutatott az irodalomban leírtaknál, de szenzitivitás és NPV tekintetében kedvezőtlenebb eredményt adott. A 2. módszer hasonló, illetve jobb specificitást, PPV-t és szenzitivitást mutatott Wang és Mghanga eredményeivel összevetve, az NPV pedig kedvezőbbnek bizonyult mind a korábban leírtaknál, mind az 1. módszernél találtaknál [134,137]. Összességében a 2. módszerrel végzett kombinált kiértékelés javította a PET/CT pontosságát a pCR előrejelzésében. Hangsúlyozandó azonban hogy a fals negativitás csak korlátozott mértékben csökkenthető a modalitás ismert felbontási korlátai miatt, a vizsgálat a patológiai kiértékelést, ezáltal a reziduális daganat mikroszkópos kizárását jelenleg nem helyettesítheti.

Korábbi vizsgálatunkban kizárólag Her2 overexpressziót mutató betegekben vizsgáltuk a bemutatott kiértékelési algoritmus hatékonyságát, míg jelen vizsgálatunkban az új módszerek teljesítőképességét egy, a biológiai szubtypusok szempontjából heterogén betegcsoportban is értékeltük.

A különböző biológiai szubtypusokban a kezelés hatására bekövetkező SUVmax és a méret változás is eltérőnek bizonyult ($p=0,044$; $p=0,0358$). Kiemelendő, hogy a Her2-pozitív daganatok mutatták a legnagyobb SUVmax csökkenést a kezelés hatására, míg a metabolikus remisszió a Luminális A szubtypusban volt a legkisebb.

Groheux és munkacsoportja kiterjedten vizsgálta a szubtypusok hatását az FDG-PET/CT-vel végzett tumorválasz mérésre. A modalitás a tripla negatív betegcsoportban bizonyult a leghatékonyabbnak a PST-re mutatott válasz mérésében, eredménye a DFS-re is prediktívnek bizonyult [234]. A Her2 overexpresszáló daganatok esetén dolgozatunkban már részleteztük az irodalomban talált ellentmondásos eredményeket a vizsgálat hatékonyságával kapcsolatban, azonban saját beteganyagunkban igen pontosnak találtuk a PET/CT vizsgálatot a tumorválasz mérésében, még trasztuzumab kezelés alkalmazása esetén is. A Her2-pozitív és Luminális B/Her2-pozitív daganatok között nem írtak le különbséget az FDG-PET/CT hatékonyságát tekintve [142,143]. Azonban hormon receptor pozitív daganatok esetében a PET/CT alkalmazhatósága korlátozott, saját és nemzetközi eredményeink alapján is kimondható, hogy a Luminal A daganatok radiofarmakon felvétele szignifikánsan alacsonyabb a non-Luminal A daganatokénál. A hormon receptor pozitív daganatokon belül nem csupán a Her2 expresszió különít el egy prognosztikailag kedvezőtlenebb betegcsoportot: a magasabb proliferációs aktivitás és a PR expressziójának hiánya szintén kedvezőtlenebb túléléssel jár [7,8]. Munkacsoportunk korábbi vizsgálata az ER+/Her2- daganatokban a PR negativitás esetén magasabb FDG-felvételt talált, azaz a különböző PR státusú ER pozitív daganatok metabolikus profilja, ahogy biológiai viselkedése is, eltér egymástól.

Az alkalmazott válaszmérő kritériumok alapján nem volt különbség az egyes biológiai szubtypusok esetében az 1. és 2. módszer között a pCR detektálásának hatékonyságában. A klinikai komplett remissziót elért esetek között egyik módszerrel mérve sem volt különbség az egyes szubtypusok eloszlásában, annak ellenére, hogy mind a SUVmax, mind a méret változásának mértéke eltért a különböző daganattípusok között. Azonban fontos kiemelni, hogy a 2. módszerrel definiált komplett remissziót mutató betegcsoportban, domináltak a Her2-overexpresszáló és tripla negatív daganatok, hasonlóan a pCR-t elért betegekben találtakkal.

5.3. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése

5.3.1 Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálat emlődaganatos betegek esetében

A dinamikus képalkotás emlődaganatok esetén kevésbé vizsgált terület. A módszer a lokálisan előrehaladott daganatokban a PST-re adott terápiás válasz direkt, *in vivo* mérésében lehet a legelőnyösebb, ahol, a korai eredmények alapján, igen hatékonynak bizonyult, még alacsony pre-terápiás FDG-felvételt mutató daganatok esetében is [165]. A sebességi állandók, és az FDG influx mértéke prediktív illetve prognosztikus jelentőséggel bírhat a pCR elérése és a hosszabb DFS és OS szempontjából [166-169]. A vizsgálat kivitelezése azonban megterhelő a vizsgált betegre valamint a személyzetre nézve is, így nagyon fontos, hogy megtaláljuk azt a betegcsoportot, ahol a legnagyobb haszon/kockázat arány elérésével alkalmazhatjuk ezt a módszert.

A legmegfelelőbb célcsoport a PST terápiára alkalmas, aktív tumormetabolizmust mutató daganatok lehetnek. Ezt a betegcsoportot jól definiálja a proliferációs markerek magas szintje – a bemutatott esetben minden vizsgált sejtciklus marker expressziója a 3.1. vizsgálatban leírt pCR-re prediktív vágópontok értékét meghaladta. A bemutatott esetben a sebességi állandók a korábbi irodalmi adatokkal nagyságrendjükben megegyező értékeket mutattak [166,168]. Alacsonyabb k₃ mellett a K₁ és k₂-vel jellemzett folyamatok (FDG felvétele és leadása) domináltak a primer daganatokban. A K_i/K₁ hányados (0,1) közelebb állt a nullához, mint az egyhez. Így az FDG fluxusának sebességét döntően a foszforiláció lépése határozza meg, mely Mankoff szerint prediktív a kedvezőbb tumorválaszra [168]. Az MRFDG meghatározása nem veszi figyelembe a LC értékét (mivel az emlőrákokban értéke nem ismert), így az MRGlu-val nem azonos érték, csupán az FDG metabolikus rátáját jellemzi (a szöveti glükóz metabolizmus rátája ettől eltérő lehet). Az MRFDG vizsgálatunkban ~ 12 $\mu\text{mol}/\text{min}/100$ gramm tumorszövetnek adódott. Mankoff eredményei alapján az MRFDG ilyen alacsony aránya prediktív a kedvező terápiás válaszra, és a hosszabb DFS-re [207].

Dinamikus adatgyűjtésnél a legfontosabb kritérium a megfelelő tumorméret, legalább 2 cm-es daganatok esetén jön szóba az FDG-felvétel kinetikájának elemzése, mivel ennél kisebb daganatok esetén a parciális térfogathatás negatívan befolyásolhatja a mérési eredményeket. Mivel a vizsgálat időigényes, nem alkalmazható 60 percet meghaladó nyugodt fekvésre képtelen betegek esetén (pl. klausztrofóbia, szorongásos megbetegedések, izületi panaszok stb.). Emellett az egyik legfontosabb limitáló tényező a hosszas vizsgálati idő alatt sokszor jelentőssé váló mozgási műtermékek kezelése,

melyet saját kutatásunk során is érzékelünk. Külön nehézség, hogy az előre az akaratlan mozgás (izomtónus csökkenés) mellett a légzési mozgásból adódó műtermékek is fokozottan kihatnak. Vizsgálataink során a mozgási műtermék kiküszöbölésére szubjektív, manuális VOI pozíció korrekciót és egy szemiautomatikus módszert, a daganat maximális FDG-felvételt mutató voxelére centrált VOI-t alkalmaztunk. A gyorsabb manuális korrekcióval szemben az időigényesebb, de pontosabb szemiautomatikus VOI elhelyezés bizonyult megfelelőnek, valamint reprodukálhatónak (a második módszer esetén kisebb volt az interobszerver variabilitás is). Emellett megfontolandó a külső markerek alkalmazása, mely, megfelelő szoftveres háttér mellett biztos viszonyítási pontként segítheti a mozgási műtermékek korrekcióját.

A PET képrekonstrukció során az időablakok hosszának kiválasztása is befolyásolhatja a kapott eredményeket. Az általunk választott felosztásnál a korai fázisban igen sűrű, 15, illetve 30 másodperces ablakokat használtunk. Ez nem bizonyult megfelelőnek, mivel a radiofarmakon inkjektálását követő első percben a primer tumor területén még igen alacsony az aktivitás, a rövid időszelletekből rekonstruált képek rendkívül zajosak, mely nehezíti a VOI helyes kijelölését, és a TAC görbe korai pontatlanságához vezet (ld. 15./B ábra). A korai frame-ek átlagolásával – melyre a szoftver lehetőséget kínál – ez a pontatlanság tapasztalataink alapján korrigálható az időbeli felbontás számottevő degradálása nélkül.

Végül fontos kiemelni, hogy limitált mennyiségű, a vizsgálatok kiértékelésére alkalmas szoftver áll rendelkezésre. Ezek közül az agyi vizsgálatokban már bizonyított, nemzetközileg is elismert PMOD szoftvert választottuk, mellyel két vizsgáló, egymástól függetlenül értékelte a nyert adatokat. A PMOD-ban a kinetikai analízis során a tumorszövet FDG-koncentrációját és a vér FDG-koncentrációját tartalmazó TAC-oknak a folyamatot leíró differenciálegyenletbe való behelyettesítésével a kinetikát jellemző paraméterek meghatározására van lehetőség, nem determinisztikus eljárást használva. A szoftver azonban a két vizsgáló tapasztalata alapján nehezen kezelhetőnek bizonyult, mivel nem célszoftver, hanem teljesen általános célú orvos-biológiai eszköz. Mindezek alapján az ELTE Informatikai Karral közreműködve, egy, az emlődaganatok képalkotása során használható speciális determinisztikus eljárás kifejlesztését tűztük ki célul, mellyel a paraméterek meghatározása pontosítható, a kapott eredmények pedig a klinikopatológiai jellemzőkkel összevethetővé válnak.

5.3.2. Az FDG-PET/CT hatékonysága a PST során a korai tumorválasz mérésében

Az FDG-PET/CT vizsgálat megfelelő időzítése a PST során vitatott kérdés. Az FDG-PET/CT nem csupán a műtétet megelőző restaging esetén, de már az első néhány kemoterápiás ciklust követően képes elkülöníteni a terápiára reagáló és nem reagáló betegeket [125]. Rousseau és munkacsoportja értékelte először a korai, egy, két, valamint három ciklus kemoterápia után mért terápiás válasz prediktivitását a későbbi tumorválaszra. A szenzitivitás, specificitás, valamint az NPV az első ciklus után 61%, 96% és 68% volt, a második ciklus után a három mérőszám 89-95-85% volt, míg a harmadik kezelés után ugyanezek 88-73-83%-nak adódtak. Így a két ciklus utáni interim vizsgálatokat tekintették követendő példának a korai válaszmérésben. Groheux és munkacsoportja 9 vizsgálat meta-analízise alapján szintén a második ciklust követően találta optimálisnak az intervallum vizsgálat végzését [136]. Wang metaanalízise alapján egy illetve két ciklus után a PET/CT vizsgálat szenzitivitása 88%, specificitása 70%, a PPV 61%, a NPV 92%, a pontosság pedig 76%, szemben a három ciklus után végzett vizsgálatokkal, ahol ugyanezek 81, 61, 34, 93 és 65 százaléknak adódtak [134].

A vizsgálat optimális időzítése mellett különösen fontos lenne a korai válasz mérése során egy standard vágópont meghatározása, melynek segítségével a kezelés korai szakaszában pontosan elkülöníthetők lennének a terápiára rezisztens betegek. A 12. táblázatban az interim PET/CT-t értékelő legfontosabb vizsgálatokat részleteztük. A vizsgálatok túlnyomórészt 50-60% közötti vágópontot definiáltak a terápiára reagáló és nem reagáló betegcsoport elkülönítésére [134,136-138]. Wang és munkacsoportja metaanalízise alapján – e megfigyeléssel egybehangzóan – az 55-65% közötti vágópont növeli a legjobban a pontosságot és korrelál legjobban a patológiai válasszal [134]. Bemutatott esetünkben 60%-os korai SUV csökkenést detektáltunk a primer tumor területén, mely prediktívnek bizonyult a pCR-re a műtéti szövettan alapján.

Esetünk külön érdekessége a core-biopsziás mintában tapasztalt, a klinikai képpel ellentmondó relatív alacsony tumorproliferáció (10% Ki-67). A tumor azonban extenzív FDG-aviditást mutatott (SUVmax 15,7). A képalkotó lelet, valamint a klinikai megjelenés miatt a PST kezelést a multidiszciplináris onkoteam indikálta, szoros obszerváció mellett. Az interim FDG-PET/CT mind a primer tumor mind az axilla metabolikus aktivitását vizsgálva igen jó tumorválaszt mutatott. A végleges műtéti szövettani mintában a primer tumorban detektált pCR mellett az axillában reziduális daganatot találtunk, mely igen magas, 80%-os Ki-67 indexet mutatott.

A core-biopsziás minta ismételt vizsgálatát is elvégeztük és a Ki-67 mellett a korábban bemutatott vizsgálataink tárgyát képező sejtciklus markerek expresszióját is meghatároztuk. Az ismételt vizsgálat során 20%-os Ki-67 index mellett 75%-os MCM2 festődést és 20%-os Ciklin A expressziót detektáltunk. Az eredeti mintában leírt 9/10 NNL mitózis indexszel szemben a PHH3 index 72/10 NNL-nek bizonyult. A kezdeti alacsony, a többi markerrel ellentmondó Ki-67 index háttérben mérési hibát valószínűsítettünk. A Ki-67 meghatározásnak ismertek a buktatói, relatív magas intra- és interobszerver variabilitása [19]. Emellett azonban a mintavétel helye is okozhat ellentmondásos leletet, a core-biopszia nem tekinthető teljes mértékben reprezentatívnak a daganat biológiai viselkedését tekintve, mivel intra-tumorális eltérések is jelen lehetnek a daganat proliferációját, de receptorexpresszióját tekintve is [235]. További magyarázat lehet magán a core-biopsziás mintán belüli heterogenitás jelenléte: az újabb lemetzés során egy tumorsejtekben gazdagabb, a tumor valódi viselkedését helyesebben reprezentáló területen végeztük kiegészítő méréseinket.

E kutatások rávilágítanak arra, hogy az interim FDG-PET/CT alkalmazásával, a metabolikus válasz korai, pontos kimutatásával a terápia hatékonyságáról annak megkezdése után már rövid időn belül információhoz juthatunk: a PST in vivo teszt jellege megvalósulhat. Emellett biológiai viselkedés szempontjából ellentmondásos daganat esetében az FDG-PET/CT alkalmazása mind a staging során mind a terápia korai szakaszában értékes adatokat szolgáltat a terápiás döntés meghozatalához.

6. Következtetések

6.1. Tumorproliferáció, mint prediktív marker a PST során

Eredményeink alapján elmondható, hogy a digitális patológiai módszerek emlődaganatok esetén jól alkalmazhatóak a proliferációs markerek expressziójának értékelésére. A digitális patológia előnye az immunhisztokémiai vizsgálatok értékelésében az objektivitás növelése, az alacsonyabb intra- és interobszerver variabilitás, nagy kapacitás és reprodukálhatóság. A vizsgált sejtciklus markerek esetén (Ki-67, MCM2, Ciklin A és PHH3) a HistoQuant szoftverrel végzett CA értékelés megbízható, idő-takarékos módszernek bizonyult.

A diagnosztikus egyetértés a CA és VA módszer között magasabb volt Ciklin A és PHH3 esetén, tehát azon markereknél, ahol az átlagos marker expresszió alacsonyabb. Emellett szól, hogy az MCM2 esetén az egyezés magasabbnak bizonyult alacsony expresszió esetén, de magasabb festődési indexek mellett az átlagos különbség nőtt a két módszer között.

A CA módszer pontossága azonban nagyban függ a kijelölt ROI stromális sejt tartalmától – így a vizsgált terület definiálásához a patológus szakember munkája nélkülözhetetlen.

Mind a négy vizsgált sejtciklus marker a pCR pontos prediktorának bizonyult, és a ROC analízis alapján végzett optimális vágópontok mentén végzett kategorizálás (magas ill. alacsony festődési index) a markerek prediktív potenciálját javította.

A core-biopsziás szövettani mintákban az ER és PR negatív, alacsonyabb T stádiumú daganatok jelentősen magasabb proliferációs aktivitást mutattak, mint a hormon pozitív, nagyméretű tumorok. Mind a négy marker expressziója magasabb volt high grade, tripla negatív daganatokban. A reziduális daganatok esetében a Ki-67 mutatott egyedül korrelációt a grade-el, míg az előforduló biológiai szubtipusok (dominálónan luminális daganatok) mindössze az MCM2 és a Ciklin A markerek alacsony expressziója alapján voltak jól elkülöníthetőek.

6.2. FDG-PET/CT hatékonysága a PST-re adott tumorválasz mérésében

A PST során a tumorválasz egzakt értékelése a patológia tárgykörébe tartozik, azonban a modern képalkotó diagnosztika hatékonyan képes segíteni a klinikust a terápiás döntések meghozatalában. Eredményeink alapján elmondható, hogy az FDG-PET/CT alkalmas modalitás a terápiás válasz mérésére és a metabolikus aktivitás illetve

annak változása jól tükrözi a daganat klinikopatológiai tulajdonságait. A SUV_{max} változása pontosabb prediktora a patológiai remisszióknak, mint a tumorméret csökkenése.

Az FDG-PET/CT vizsgálatok értékelésére a PERCIST kritériumrendszer kiválóan alkalmas, azonban vizsgálatunk során a RECIST rendszer fontossága is előtérbe került a patológiai remisszió előrejelzésében. A restaging képalkotás során tehát nem csupán a PERCIST szerint érdemes értékelnünk az FDG-PET/CT vizsgálat eredményeit, de egy módosított, a PET/CT képalkotás jellegzetességeit is figyelembe vevő RECIST értékelés bevezetése hasznos információval járulhat hozzá a tumorválasz értékeléséhez és a patológiai válasz előrejelzéséhez.

Fentiek alapján vizsgáltuk két új, egyszerűsített PET/CT kiértékelési módszer hatékonyságát a pCR előrejelzésében Her2 overexpresszáló tumoroknál és nagyobb, szubtípus szerint heterogén betegcsoportban is. Mindkét módszer a komplett remissziót különíti el az egyéb tumorválasztól, az első módszer a komplett remissziót módosított PERCIST kritérium szerint értékeli, a második pedig PERCIST és RECIST kritériumokat egyaránt alkalmaz a klinikai komplett remisszió definiálására.

A konvencionális UH-al végzett válaszméréssel szemben mindkét módszert pontosabbnak találtuk a válaszmérésben a Her2 overexpressziót mutató betegcsoportban vizsgálva.

A PST-t követő válasz mérésében a bemutatott kombinált kiértékelés különösen jelentős előnyt mutatott, mind standard kemoterápia mind kombinált monoklonális antitest terápia esetén.

Fontos kiemelni, hogy a Her2 overexpresszáló emlődaganatos betegcsoportban a PST kezelés részeként a trastuzumab terápia létjogosultsága nem lehet kérdés, alkalmazásával a mindennapi gyakorlatban a klinikai vizsgálatokban talált eredményeknél is kedvezőbb pCR rátát értünk el. Azonban a Luminális B/Her2-pozitív daganatok biológiai viselkedése eltérő: a pCR elérése ritkább, valamint annak prognosztikus értéke is kisebb. A Luminális B/Her2-pozitív daganatok esetén indokolt lehet további alcsoportok elkülönítése, a PST indikációs körének szűkítése.

A biológiai szubtípus hatása a metabolikus és morfológiai válaszra sem elhanyagolható: mind a SUV_{max}, mind a méret változása szignifikánsan eltér az egyes szubtípusok esetében. Azonban mindkét alkalmazott válaszmérő kritériumrendszer képes volt a tumorválaszt pontosan előre jelezni szubtípus szerint heterogén

betegcsoportban is, így alkalmazásukkal az FDG-PET/CT-vel végzett válaszmérést optimalizálhatjuk.

A kombinált válaszmérő kritériumok alkalmazásával tehát az FDG-PET/CT prediktivitása igen magas volt a pCR-ra. Nagyobb, prospektív vizsgálatok tervezésével eredményeink validálhatóak, és a kombinált, PERCIST és RECIST alapú kritériumrendszer a klinikai gyakorlatba bevezethető, utánkövetés során annak prognosztikai jelentősége is értékelhető.

6.3. Dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok és a korai tumorválasz értékelése

A dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok alkalmasak az FDG-felvétel pontos kvantifikálására, így új prediktív és prognosztikai markerek lehetőségét hordozzák. Az FDG-influx sebessége és az MRFDG prediktív a kedvező patológiai válaszra, és irodalmi adatok alapján összefügg a kedvezőbb prognózissal is. A dinamikus vizsgálatok kivitelezése azonban időigényes, így fontos definiálnunk azt a betegcsoportot, ahol alkalmazásuk a legkedvezőbb haszon/kockázat aránnyal jár. A mozgási műtermékek minimalizása mellett a megfelelő kiértékelő szoftver kiválasztása kulcsfontosságú.

A statikus FDG-PET/CT vizsgálatok indikációs területe még mindig formálódik, mind a nemzetközi, mind a hazai ajánlásokban a kezelést követő restaging mellett a korai terápiás válasz mérése is előtérbe került. Az interim, egy illetve két ciklust követő FDG-PET/CT vizsgálatok emlődaganatok esetén sikeresnek bizonyultak a korai tumorválasz mérésében: az FDG-felvétel korai csökkenése a pCR jó prediktora. Esettanulmányunk rávilágít a tumor metabolikus válaszának mérésében a korai értékelés jelentőségére biológiai viselkedés szempontjából ellentmondásokat mutató daganatok esetében.

7. Összefoglalás

Az onkológiai ellátás biomarker alapú, személyre szabott megközelítése emlődaganatok primer szisztémás terápiája (PST) esetén is dominál. Prediktív és prognosztikus biomarkerek meghatározása iránt nem csupán a molekuláris patológia, de a képalkotás felé is nő az igény, azonban a biomarkerek vizsgálata során használt módszerek objektivitása kulcsfontosságú.

A digitális patológiai módszerek emlődaganatok esetén jól alkalmazhatóak a sejtciklus markereinek (Ki-67, MCM2, Ciklin A és PHH3) vizsgálatára. A diagnosztikus egyetértés a computer-asszisztált (CA) és a rutin vizuális analízis (VA) között magasabb volt a Ciklin A és a PHH3, mint a Ki-67 és MCM2 markerek esetén. A CA módszer pontossága azonban függ a vizsgált régió stromális sejt tartalmától. Mind a négy vizsgált marker a patológiai komplett remisszió (pCR) pontos prediktora. A ROC analízis alapján definiált optimális vágópontok mentén végzett kategorizálás (magas ill. alacsony festődés) a CA-val mért eredmények prediktív potenciálját javította. Mind a négy marker expressziója magasabb high grade, tripla negatív daganatokban.

Kutatásaink alapján az FDG-PET/CT vizsgálatok objektív értékelésére alkalmazható válaszmérő skálák közül nem csupán a metabolikus, de a morfológiai válasz értékelésére használt rendszerek is jelentőséggel bírnak a patológiai remisszió előrejelzésében. Eredményeink alapján a komplett remisszió előrejelzésére egyszerűsített PERCIST kritériumrendszert alkalmaztunk, valamint egy kombinált, módosított RECIST kritériumokat is figyelembe vevő definíció pontosságát is vizsgáltuk. A módszerek mind homogén, Her2-overexpressziót mutató, mind szubtípus szempontjából heterogén betegcsoportban pontosan jelezték előre a pCR-t, de a kombinált értékelés érzékenyebbnek bizonyult.

Vizsgáltuk továbbá a dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok alkalmazhatóságát a mindennapi gyakorlatban. Az FDG halmozásdinamikájára vonatkozó sebességállandók prediktívek a pCR-re és új prognosztikai markerekként is használhatóak.

A statikus FDG-PET/CT vizsgálatok optimális időzítése a PST során jelenleg még vitatott. Az egy vagy két ciklus után alkalmazott interim FDG-PET/CT vizsgálatok emlődaganatok esetén is sikeresnek bizonyultak a korai tumorválasz mérésében: az FDG-felvétel korai csökkenése a pCR jó prediktora. Kutatásaink emellett rávilágítanak a tumor metabolizmus mérésének jelentőségére biológiai viselkedés szempontjából ellentmondásokat mutató daganatok esetében.

8. Summary

Biomarker-based, personalized approach of oncology care is predominant for PST, as well. The demand for predictive and prognostic biomarkers is increasing not only in the field of molecular pathology, but in the area of imaging modalities, as well. However, objectivity of methods used during biomarker assessment is essential.

Methods of digital pathology proved to be suitable tools for evaluating the expression of cell cycle markers (Ki-67, MCM2, Cyclin A and PHH3) in breast cancer. Diagnostic agreement between computer-assisted (CA) and routine visual analysis (VA) was higher for Cyclin A and PHH3 than for Ki67 and MCM2. However, accuracy of CA analysis is highly dependent on the stromal content of the selected region of interest. All four investigated cell cycle markers were accurate predictors of pCR. ROC analysis based definition of the optimal cut-off values, and consecutively performed categorization along these optimal cut-offs (into high or low staining categories) improved the predictive potential of CA assessment. All four investigated markers showed higher expression for high grade, triple negative breast tumours.

In our study, among response measuring scores used for objective evaluation of PET/CT scans, not only systems used to evaluate metabolic response, but also morphology based score systems proved to be significant for predicting pathological remission. According to these results, we applied a simplified PERCIST system for prediction of complete remission, and we also assessed the accuracy of a combined definition that takes into account modified RECIST criteria, as well. These methods accurately predicted pCR both for homogeneous, Her-2 overexpressing patient group and for a group, which was heterogeneous in terms of biological behaviour of tumours; however, combined evaluation proved to be more sensitive.

Additionally, we evaluated the applicability of dynamic PET/CT imaging in the daily routine. Results of kinetic measurements related to the dynamics of FDG-uptake were predictive for pCR and can also be used as novel prognostic markers.

The ideal timing of static PET/CT scans during PST is still under debate. Interim PET/CT scans performed after one or two cycles proved to be useful for assessment of early tumour response in breast tumours: early decrease in FDG-uptake is a good predictor for pCR. Additionally, our research highlighted the significance of evaluation of tumour metabolism for tumours with controversial biological behaviour.

9. Irodalomjegyzék

1. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, Zackrisson S, Cardoso F, Committee EG (2015) Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-updagger. *Ann Oncol*, 26 Suppl 5:v8-v30.
2. Egészségügyi statisztikai évkönyv, 2013. Központi Statisztikai Hivatal, Budapest, 2013 (<http://www.ksh.hu>).
3. Nemzeti Rákregiszter. (http://www.onkol.hu/hu/nemzeti_rakregiszter; 2015.09.15. verzió).
4. Kulka J, Szász AM. Szövettan In: Bodoky Gy. és Kopper L (szerk.) Emlő- és nőgyógyászati onkológia. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2012; 70-83.
5. Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja az emlő daganatainak ellátásáról (<http://www.eum.hu/download.php?docID=288>).
6. Nagykálnai T, Dank M. Az emlőrák endokrinterápiája. In: Jeney A, Kralovánszky J (szerk.), *Onkofarmakológia*. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2010: 741-764.
7. Braun L, Mietzsch F, Seibold P, Schneeweiss A, Schirmacher P, Chang-Claude J, Peter Sinn H, Aulmann S (2013) Intrinsic breast cancer subtypes defined by estrogen receptor signalling-prognostic relevance of progesterone receptor loss. *Mod Pathol*, 26:1161-1171.
8. Prat A, Cheang MC, Martin M, Parker JS, Carrasco E, Caballero R, Tyldesley S, Gelmon K, Bernard PS, Nielsen TO, Perou CM (2013) Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J Clin Oncol*, 31:203-209.
9. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM (1998) Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol*, 11:155-168.
10. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL (1987) Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, 235:177-182.
11. Spears M, Taylor KJ, Munro AF, Cunningham CA, Mallon EA, Twelves CJ, Cameron DA, Thomas J, Bartlett JM (2012) In situ detection of HER2:HER2 and HER2:HER3 protein-protein interactions demonstrates prognostic significance in early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 132:463-470.

- 12.** Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF, American Society of Clinical O, College of American P (2013) Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*, 31:3997-4013.
- 13.** Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF, American Society of Clinical O, College of American P (2007) American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol*, 25:118-145.
- 14.** Cserni G, Francz M, Jaray B, Kalman E, Kovacs I, Kulka J, Orosz Z, Udvarhelyi N, Vass L (2010) [Pathologic diagnosis and histopathology record of breast cancer]. *Magy Onkol*, 54:217-226.
- 15.** Endl E, Gerdes J (2000) The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. *Exp Cell Res*, 257:231-237.
- 16.** Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, Bartlett J, Coombes RC, Cuzick J, Ellis M, Henry NL, Hugh JC, Lively T, McShane L, Paik S, Penault-Llorca F, Prudkin L, Regan M, Salter J, Sotiriou C, Smith IE, Viale G, Zujewski JA, Hayes DF, International Ki-67 in Breast Cancer Working G (2011) Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *J Natl Cancer Inst*, 103:1656-1664.
- 17.** de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Jr., Colozza M, Mano MS, Durbecq V, Sotiriou C, Larsimont D, Piccart-Gebhart MJ, Paesmans M (2007) Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer*, 96:1504-1513.
- 18.** Fasching PA, Heusinger K, Haeberle L, Niklos M, Hein A, Bayer CM, Rauh C, Schulz-Wendtland R, Bani MR, Schrauder M, Kahmann L, Lux MP, Strehl JD, Hartmann A, Dimmler A, Beckmann MW, Wachter DL (2011) Ki67, chemotherapy response, and prognosis in breast cancer patients receiving neoadjuvant treatment. *BMC Cancer*, 11:486.

19. Colozza M, Azambuja E, Cardoso F, Sotiriou C, Larsimont D, Piccart MJ (2005) Proliferative markers as prognostic and predictive tools in early breast cancer: where are we now? *Ann Oncol*, 16:1723-1739.
20. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, Senn HJ, Panel m (2013) Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*, 24:2206-2223.
21. Polley MY, Leung SC, McShane LM, Gao D, Hugh JC, Mastropasqua MG, Viale G, Zabaglo LA, Penault-Llorca F, Bartlett JM, Gown AM, Symmans WF, Piper T, Mehl E, Enos RA, Hayes DF, Dowsett M, Nielsen TO, International Ki67 in Breast Cancer Working Group of the Breast International G, North American Breast Cancer G (2013) An international Ki67 reproducibility study. *J Natl Cancer Inst*, 105:1897-1906.
22. Loddo M, Kingsbury SR, Rashid M, Proctor I, Holt C, Young J, El-Sheikh S, Falzon M, Eward KL, Prevost T, Sainsbury R, Stoeber K, Williams GH (2009) Cell-cycle-phase progression analysis identifies unique phenotypes of major prognostic and predictive significance in breast cancer. *Br J Cancer*, 100:959-970.
23. Shetty A, Loddo M, Fanshawe T, Prevost AT, Sainsbury R, Williams GH, Stoeber K (2005) DNA replication licensing and cell cycle kinetics of normal and neoplastic breast. *Br J Cancer*, 93:1295-1300.
24. Tokes AM, Szasz AM, Geszti F, Lukacs LV, Kenessey I, Turanyi E, Meggyeshazi N, Molnar IA, Fillinger J, Soltesz I, Balint K, Hanzely Z, Arato G, Szendroi M, Kulka J (2015) Expression of proliferation markers Ki67, cyclin A, geminin and aurora-kinase A in primary breast carcinomas and corresponding distant metastases. *J Clin Path*, 68:274-282.
25. Caldon CE, Daly RJ, Sutherland RL, Musgrove EA (2006) Cell cycle control in breast cancer cells. *J Cell Biochem*, 97:261-274.
26. Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN (2003) The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Prolif*, 36:131-149.
27. Williams GH, Stoeber K (2012) The cell cycle and cancer. *J Pathol*, 226:352-364.
28. Tachibana KE, Gonzalez MA, Coleman N (2005) Cell-cycle-dependent regulation of DNA replication and its relevance to cancer pathology. *J Pathol*, 205:123-129.
29. Gonzalez MA, Pinder SE, Callagy G, Vowler SL, Morris LS, Bird K, Bell JA, Laskey RA, Coleman N (2003) Minichromosome maintenance protein 2 is a strong independent prognostic marker in breast cancer. *J Clin Oncol*, 21:4306-4313.

- 30.** Ahlin C, Aaltonen K, Amini RM, Nevanlinna H, Fjallskog ML, Blomqvist C (2007) Ki67 and cyclin A as prognostic factors in early breast cancer. What are the optimal cut-off values? *Histopathology*, 51:491-498.
- 31.** Ahlin C, Zhou W, Holmqvist M, Holmberg L, Nilsson C, Jirstrom K, Blomqvist C, Amini RM, Fjallskog ML (2009) Cyclin A is a proliferative marker with good prognostic value in node-negative breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 18:2501-2506.
- 32.** Strand C, Ahlin C, Bendahl PO, Fjallskog ML, Hedenfalk I, Malmstrom P, Ferno M (2012) Combination of the proliferation marker cyclin A, histological grade, and estrogen receptor status in a new variable with high prognostic impact in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 131:33-40.
- 33.** Poikonen P, Sjostrom J, Amini RM, Villman K, Ahlgren J, Blomqvist C (2005) Cyclin A as a marker for prognosis and chemotherapy response in advanced breast cancer. *Br J Cancer*, 93:515-519.
- 34.** Bossard C, Jarry A, Colombeix C, Bach-Ngohou K, Moreau A, Loussouarn D, Mosnier JF, Laboisie CL (2006) Phosphohistone H3 labelling for histoprognostic grading of breast adenocarcinomas and computer-assisted determination of mitotic index. *J Clin Path*, 59:706-710.
- 35.** Skaland I, Janssen EA, Gudlaugsson E, Hui Ru Guo L, Baak JP (2009) The prognostic value of the proliferation marker phosphohistone H3 (PPH3) in luminal, basal-like and triple negative phenotype invasive lymph node-negative breast cancer. *Cell Oncol*, 31:261-271.
- 36.** Skaland I, Janssen EA, Gudlaugsson E, Klos J, Kjellevold KH, Soiland H, Baak JP (2009) Validating the prognostic value of proliferation measured by Phosphohistone H3 (PPH3) in invasive lymph node-negative breast cancer patients less than 71 years of age. *Breast Cancer Res Treat*, 114:39-45.
- 37.** Baak JP, Gudlaugsson E, Skaland I, Guo LH, Klos J, Lende TH, Soiland H, Janssen EA, Zur Hausen A (2009) Proliferation is the strongest prognosticator in node-negative breast cancer: significance, error sources, alternatives and comparison with molecular prognostic markers. *Breast Cancer Res Treat*, 115:241-254.
- 38.** Szasz AM, Tokes AM, Micsinai M, Krenacs T, Jakab C, Lukacs L, Nemeth Z, Baranyai Z, Dede K, Madaras L, Kulka J (2011) Prognostic significance of claudin expression changes in breast cancer with regional lymph node metastasis. *Clin Exp Metastasis*, 28:55-63.

39. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D (2000) Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 406:747-752.
40. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, Watson M, Davies S, Bernard PS, Parker JS, Perou CM, Ellis MJ, Nielsen TO (2009) Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 101:736-750.
41. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, Senn HJ, Panel M (2015) Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol*, 26:1533-1546.
42. Prat A, Perou CM (2009) Mammary development meets cancer genomics. *Nat Med*, 15:842-844.
43. Laurinavicius A, Laurinaviciene A, Dasevicius D, Elie N, Plancoulaine B, Bor C, Herlin P (2012) Digital image analysis in pathology: benefits and obligation. *Anal Cell Path*, 35:75-78.
44. Krenacs T, Zsakovics I, Diczhazi C, Ficsor L, Varga VS, Molnar B (2009) The potential of digital microscopy in breast pathology. *Pathol Oncol Res*, 15:55-58.
45. Laurinavicius A, Plancoulaine B, Laurinaviciene A, Herlin P, Meskauskas R, Baltrusaityte I, Besusparis J, Dasevicius D, Elie N, Iqbal Y, Bor C (2014) A methodology to ensure and improve accuracy of Ki67 labelling index estimation by automated digital image analysis in breast cancer tissue. *Breast Cancer Res*, 16:R35.
46. Plancoulaine B, Laurinaviciene A, Meskauskas R, Baltrusaityte I, Besusparis J, Herlin P, Laurinavicius A (2014) Digital immunohistochemistry wizard: image analysis-assisted stereology tool to produce reference data set for calibration and quality control. *Diagn Path*, 9 Suppl 1:S8.
47. Gudlaugsson E, Skaland I, Janssen EA, Smaaland R, Shao Z, Malpica A, Voorhorst F, Baak JP (2012) Comparison of the effect of different techniques for measurement of Ki67 proliferation on reproducibility and prognosis prediction accuracy in breast cancer. *Histopathology*, 61:1134-1144.
48. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, editors. *AJCC cancer staging manual (7th edition)*. Springer, New York, NY, USA, 2010 (<https://cancerstaging.org>).

- 49.** Bonadonna G, Veronesi U, Brambilla C, Ferrari L, Luini A, Greco M, Bartoli C, Coopmans de Yoldi G, Zucali R, Rilke F, et al. (1990) Primary chemotherapy to avoid mastectomy in tumors with diameters of three centimeters or more. *J Natl Cancer Inst*, 82:1539-1545.
- 50.** Fisher B, Bryant J, Wolmark N, Mamounas E, Brown A, Fisher ER, Wickerham DL, Begovic M, DeCillis A, Robidoux A, Margolese RG, Cruz AB, Jr., Hoehn JL, Lees AW, Dimitrov NV, Bear HD (1998) Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol*, 16:2672-2685.
- 51.** Kaufmann M, von Minckwitz G, Mamounas EP, Cameron D, Carey LA, Cristofanilli M, Denkert C, Eiermann W, Gnant M, Harris JR, Karn T, Liedtke C, Mauri D, Rouzier R, Ruckhaeberle E, Semiglazov V, Symmans WF, Tutt A, Pusztai L (2012) Recommendations from an international consensus conference on the current status and future of neoadjuvant systemic therapy in primary breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 19:1508-1516.
- 52.** Sachelarie I, Grossbard ML, Chadha M, Feldman S, Ghesani M, Blum RH (2006) Primary systemic therapy of breast cancer. *Oncologist*, 11:574-589.
- 53.** Kulka J, Tokes AM, Toth AI, Szasz AM, Farkas A, Borka K, Jaray B, Szekely E, Istok R, Lotz G, Madaras L, Korompay A, Harsanyi L, Laszlo Z, Rusz Z, Molnar BA, Molnar IA, Kenessey I, Szentmartoni G, Szekely B, Dank M (2009) [Immunohistochemical phenotype of breast carcinomas predicts the effectiveness of primary systemic therapy]. *Magy Onkol*, 53:335-343.
- 54.** Kaufmann M, von Minckwitz G, Smith R, Valero V, Gianni L, Eiermann W, Howell A, Costa SD, Beuzebec P, Untch M, Blohmer JU, Sinn HP, Sittek R, Souchon R, Tulusan AH, Volm T, Senn HJ (2003) International expert panel on the use of primary (preoperative) systemic treatment of operable breast cancer: review and recommendations. *J Clin Oncol*, 21:2600-2608.
- 55.** Kaufmann M, Hortobagyi GN, Goldhirsch A, Scholl S, Makris A, Valagussa P, Blohmer JU, Eiermann W, Jackesz R, Jonat W, Lebeau A, Loibl S, Miller W, Seeber S, Semiglazov V, Smith R, Souchon R, Stearns V, Untch M, von Minckwitz G (2006) Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. *J Clin Oncol*, 24:1940-1949.
- 56.** Fisher B, Brown A, Mamounas E, Wieand S, Robidoux A, Margolese RG, Cruz AB, Jr., Fisher ER, Wickerham DL, Wolmark N, DeCillis A, Hoehn JL, Lees AW,

Dimitrov NV (1997) Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Clin Oncol*, 15:2483-2493.

57. Kinoshita T (2011) Preoperative therapy: recent findings. *Breast Cancer*, 18:80-84.

58. Pathological Complete Response in Neoadjuvant Treatment of High-Risk Early-Stage Breast Cancer: Use as an Endpoint to Support Accelerated Approval. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (2014 October) (<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecompliancereulatoryinformation/guidances/ucm305501pdf>).

59. von Minckwitz G, Blohmer JU, Costa SD, Denkert C, Eidtmann H, Eiermann W, Gerber B, Hanusch C, Hilfrich J, Huober J, Jackisch C, Kaufmann M, Kummel S, Paepke S, Schneeweiss A, Untch M, Zahm DM, Mehta K, Loibl S (2013) Response-guided neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol*, 31:3623-3630.

60. Lang I, Kahan Z, Pinter T, Dank M, Boer K, Pajkos G, Faluhelyi Z, Piko B, Eckhardt S, Horvath Z (2010) [Pharmaceutical therapy of breast cancer]. *Magy Onkol*, 54:237-254.

61. Untch M, Loibl S, Konecny GE, von Minckwitz G (2012) Neoadjuvant clinical trials for the treatment of primary breast cancer: the experience of the German study groups. *Curr Oncol Rep*, 14:27-34.

62. von Minckwitz G, Kummel S, Vogel P, Hanusch C, Eidtmann H, Hilfrich J, Gerber B, Huober J, Costa SD, Jackisch C, Loibl S, Mehta K, Kaufmann M, German Breast G (2008) Neoadjuvant vinorelbine-capecitabine versus docetaxel-doxorubicin-cyclophosphamide in early nonresponsive breast cancer: phase III randomized GeparTrio trial. *J Natl Cancer Inst*, 100:542-551.

63. von Minckwitz G, Kummel S, Vogel P, Hanusch C, Eidtmann H, Hilfrich J, Gerber B, Huober J, Costa SD, Jackisch C, Loibl S, Mehta K, Kaufmann M, German Breast G (2008) Intensified neoadjuvant chemotherapy in early-responding breast cancer: phase III randomized GeparTrio study. *J Natl Cancer Inst*, 100:552-562.

64. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L (2001) Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*, 344:783-792.

65. Nielsen DL, Andersson M, Kamby C (2009) HER2-targeted therapy in breast cancer. Monoclonal antibodies and tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Treat Rev*, 35:121-136.
66. Baselga J, Perez EA, Pienkowski T, Bell R (2006) Adjuvant trastuzumab: a milestone in the treatment of HER-2-positive early breast cancer. *Oncologist*, 11 Suppl 1:4-12.
67. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Manikhas A, Lluch A, Tjulandin S, Zambetti M, Vazquez F, Byakhov M, Lichinitser M, Climent MA, Ciruelos E, Ojeda B, Mansutti M, Bozhok A, Baronio R, Feyereislova A, Barton C, Valagussa P, Baselga J (2010) Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet*, 375:377-384.
68. Di Cosimo S, Arpino G, Generali D (2014) Neoadjuvant treatment of HER2 and hormone-receptor positive breast cancer - moving beyond pathological complete response. *Breast*, 23:188-192.
69. Vaz-Luis I, Ottesen RA, Hughes ME, Marcom PK, Moy B, Rugo HS, Theriault RL, Wilson J, Niland JC, Weeks JC, Lin NU (2012) Impact of hormone receptor status on patterns of recurrence and clinical outcomes among patients with human epidermal growth factor-2-positive breast cancer in the National Comprehensive Cancer Network: a prospective cohort study. *Breast Cancer Res*, 14:R129.
70. Untch M, Loibl S, Bischoff J, Eidtmann H, Kaufmann M, Blohmer JU, Hilfrich J, Strumberg D, Fasching PA, Kreienberg R, Tesch H, Hanusch C, Gerber B, Rezai M, Jackisch C, Huober J, Kuhn T, Nekljudova V, von Minckwitz G, German Breast G, Arbeitsgemeinschaft Gynakologische Onkologie-Breast Study G (2012) Lapatinib versus trastuzumab in combination with neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy (GeparQuinto, GBG 44): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 13:135-144.
71. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, Di Cosimo S, de Azambuja E, Aura C, Gomez H, Dinh P, Fauria K, Van Dooren V, Aktan G, Goldhirsch A, Chang TW, Horvath Z, Coccia-Portugal M, Domont J, Tseng LM, Kunz G, Sohn JH, Semiglazov V, Lerzo G, Palacova M, Probachai V, Pusztai L, Untch M, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Neo AST (2012) Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer

(NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet*, 379:633-640.

72. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Roman L, Tseng LM, Liu MC, Lluch A, Staroslawska E, de la Haba-Rodriguez J, Im SA, Pedrini JL, Poirier B, Morandi P, Semiglazov V, Srimuninnimit V, Bianchi G, Szado T, Ratnayake J, Ross G, Valagussa P (2012) Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 13:25-32.

73. Guarneri V, Frassoldati A, Bottini A, Cagossi K, Bisagni G, Sarti S, Ravaioli A, Cavanna L, Giardina G, Musolino A, Untch M, Orlando L, Artioli F, Boni C, Generali DG, Serra P, Bagnalasta M, Marini L, Piacentini F, D'Amico R, Conte P (2012) Preoperative chemotherapy plus trastuzumab, lapatinib, or both in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer: results of the randomized phase II CHER-LOB study. *J Clin Oncol*, 30:1989-1995.

74. Robidoux A, Tang G, Rastogi P, Geyer CE, Jr., Azar CA, Atkins JN, Fehrenbacher L, Bear HD, Baez-Diaz L, Sarwar S, Margolese RG, Farrar WB, Brufsky AM, Shibata HR, Bandos H, Paik S, Costantino JP, Swain SM, Mamounas EP, Wolmark N (2013) Lapatinib as a component of neoadjuvant therapy for HER2-positive operable breast cancer (NSABP protocol B-41): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 14:1183-1192.

75. European Medicines Agency - summary of opinion: Herceptin (trastuzumab). London (United Kingdom), European Medicines Agency, 17 November 2011. (http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion/human/000278/WC500117821.pdf).

76. Ismael G, Hegg R, Muehlbauer S, Heinzmann D, Lum B, Kim SB, Pienkowski T, Lichinitser M, Semiglazov V, Melichar B, Jackisch C (2012) Subcutaneous versus intravenous administration of (neo)adjuvant trastuzumab in patients with HER2-positive, clinical stage I-III breast cancer (HannaH study): a phase 3, open-label, multicentre, randomised trial. *Lancet Oncol*, 13:869-878.

77. Kaufmann M, Bajetta E, Dirix LY, Fein LE, Jones SE, Zilembo N, Dugardyn JL, Nasurdi C, Mennel RG, Cervek J, Fowst C, Polli A, di Salle E, Arkhipov A, Piscitelli G, Miller LL, Massimini G (2000) Exemestane is superior to megestrol acetate after tamoxifen failure in postmenopausal women with advanced breast cancer: results of a

phase III randomized double-blind trial. The Exemestane Study Group. *J Clin Oncol*, 18:1399-1411.

78. Cuzick J, Sestak I, Baum M, Buzdar A, Howell A, Dowsett M, Forbes JF (2010) Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 10-year analysis of the ATAC trial. *Lancet Oncol*, 11:1135-1141.

79. Charehbili A, Fontein DB, Kroep JR, Liefers GJ, Mieog JS, Nortier JW, van de Velde CJ (2014) Neoadjuvant hormonal therapy for endocrine sensitive breast cancer: a systematic review. *Cancer Treat Rev*, 40:86-92.

80. Mathew J, Asgeirsson KS, Jackson LR, Cheung KL, Robertson JF (2009) Neoadjuvant endocrine treatment in primary breast cancer - review of literature. *Breast*, 18:339-344.

81. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, Lin L, Snider J, Prat A, Parker JS, Luo J, DeSchryver K, Allred DC, Esserman LJ, Unzeitig GW, Margenthaler J, Babiera GV, Marcom PK, Guenther JM, Watson MA, Leitch M, Hunt K, Olson JA (2011) Randomized phase II neoadjuvant comparison between letrozole, anastrozole, and exemestane for postmenopausal women with estrogen receptor-rich stage 2 to 3 breast cancer: clinical and biomarker outcomes and predictive value of the baseline PAM50-based intrinsic subtype--ACOSOG Z1031. *J Clin Oncol*, 29:2342-2349.

82. Kahán Zs, Rusz O, Uhercsák G, Nikolényi A. (2014) [Neoadjuvant therapy in breast cancer - an update]. *Klin Onkol*, 2:75-83.

83. Tardivon AA, Ollivier L, El Khoury C, Thibault F (2006) Monitoring therapeutic efficacy in breast carcinomas. *Eur Radiol*, 16:2549-2558.

84. Bidlek M, Kovacs E, Feher K, Godeny M (2015) [New trends and novel possibilities in the diagnostic imaging of breast cancer]. *Magy Onkol*, 59:44-55.

85. Vinnicombe SJ, MacVicar AD, Guy RL, Sloane JP, Powles TJ, Knee G, Husband JE (1996) Primary breast cancer: mammographic changes after neoadjuvant chemotherapy, with pathologic correlation. *Radiology*, 198:333-340.

86. Moskovic EC, Mansi JL, King DM, Murch CR, Smith IE (1993) Mammography in the assessment of response to medical treatment of large primary breast cancer. *Clin Radiol*, 47:339-344.

87. Schott AF, Roubidoux MA, Helvie MA, Hayes DF, Kleer CG, Newman LA, Pierce LJ, Griffith KA, Murray S, Hunt KA, Paramagul C, Baker LH (2005) Clinical and radiologic assessments to predict breast cancer pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*, 92:231-238.

- 88.** Roubidoux MA, LeCarpentier GL, Fowlkes JB, Bartz B, Pai D, Gordon SP, Schott AF, Johnson TD, Carson PL (2005) Sonographic evaluation of early-stage breast cancers that undergo neoadjuvant chemotherapy. *J Ultrasound Med*, 24:885-895.
- 89.** Lernevall A (2000) Imaging of axillary lymph nodes. *Acta Oncol* 39:277-281.
- 90.** Balu-Maestro C, Chapellier C, Bleuse A, Chanalet I, Chauvel C, Largillier R (2002) Imaging in evaluation of response to neoadjuvant breast cancer treatment benefits of MRI. *Breast Cancer Res Treat*, 72:145-152.
- 91.** Londero V, Bazzocchi M, Del Frate C, Puglisi F, Di Loreto C, Francescutti G, Zuiani C (2004) Locally advanced breast cancer: comparison of mammography, sonography and MR imaging in evaluation of residual disease in women receiving neoadjuvant chemotherapy. *Eur Radiol*, 14:1371-1379.
- 92.** Thibault F, Nos C, Meunier M, El Khoury C, Ollivier L, Sigal-Zafrani B, Clough K (2004) MRI for surgical planning in patients with breast cancer who undergo preoperative chemotherapy. *Am J Roentgenol*, 183:1159-1168.
- 93.** Atuegwu NC, Arlinghaus LR, Li X, Brianwelch E, Chakravarthy BA, Gore JC, Yankeelov TE (2011) Integration of diffusion-weighted MRI data and a simple mathematical model to predict breast tumor cellularity during neoadjuvant chemotherapy. *Magn Reson Med*, 66(6):1689-96.
- 94.** Stadlbauer A, Bernt R, Gruber S, Bogner W, Pinker K, van der Riet W, Haller J, Salomonowitz E (2009) Diffusion-weighted MR imaging with background body signal suppression (DWIBS) for the diagnosis of malignant and benign breast lesions. *Eur Radiol*, 19:2349-2356.
- 95.** Belli P, Costantini M, Ierardi C, Bufi E, Amato D, Mule A, Nardone L, Terribile D, Bonomo L (2011) Diffusion-weighted Imaging in Evaluating the Response to Neoadjuvant Breast Cancer Treatment. *Breast J*, 17(6):610-619.
- 96.** Richard R, Thomassin I, Chapellier M, Scemama A, de Cremoux P, Varna M, Giacchetti S, Espie M, de Kerviler E, de Bazelaire C (2013) Diffusion-weighted MRI in pretreatment prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Eur Radiol*, 23:2420-2431.
- 97.** Szilvási István: Bevezetés. Rövid történeti áttekintés; Onkológia. In: Szilvási István (szerk.): *Nukleáris Medicina*. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2010:25-29; 263-286.
- 98.** Mankoff DA, Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Drucker MJ, Livingston RB (1999) Monitoring the response of patients with locally advanced breast carcinoma to

neoadjuvant chemotherapy using [technetium 99m]-sestamibi scintimammography. *Cancer*, 85:2410-2423.

99. Tiling R, Kessler M, Untch M, Sommer H, Linke R, Brinkbaumer K, Hahn K (2003) Breast cancer: monitoring response to neoadjuvant chemotherapy using Tc-99m sestamibi scintimammography. *Onkologie*, 26:27-31.

100. Wilczek B, von Schoultz E, Bergh J, Eriksson E, Larsson SA, Jacobsson H (2003) Early assessment of neoadjuvant chemotherapy by FEC-courses of locally advanced breast cancer using 99mTc-MIBI. *Acta Radiol*, 44:284-287.

101. Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Livingston RB, Linden HM, Lawton TJ, Barlow WE, Schubert EK, Mankoff DA (2005) Residual tumor uptake of [99mTc]-sestamibi after neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast carcinoma predicts survival. *Cancer*, 103:680-688.

102. Del Vecchio S, Zannetti A, Aloj L, Salvatore M (2003) MIBI as prognostic factor in breast cancer. *Q J Nucl Med*, 47:46-50.

103. Phelps, M. E. PET physics, instrumentation, and scanners. Springer Science+Business Media LLC, Los Angeles, USA, 2006.

104. Boellaard R, O'Doherty MJ, Weber WA, Mottaghy FM, Lonsdale MN, Stroobants SG, Oyen WJ, Kotzerke J, Hoekstra OS, Pruim J, Marsden PK, Tatsch K, Hoekstra CJ, Visser EP, Arends B, Verzijlbergen FJ, Zijlstra JM, Comans EF, Lammertsma AA, Paans AM, Willemsen AT, Beyer T, Bockisch A, Schaefer-Prokop C, Delbeke D, Baum RP, Chiti A, Krause BJ (2010) FDG PET and PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour PET imaging: version 1.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 37:181-200.

105. Gulyás B (1999) A PET az ezredfordulón. *Magyar Tudomány* 10. Különszám.

106. Harrison MR, George DJ (2011) Better late than early: FDG-PET imaging in metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 17:5841-5843.

107. Standard Operation Procedures for PET/CT: A Practical Approach for Use in Adult Oncology. IAEA Human Health Series No.26. International Atomic Energy Agency, Vienna, 2013.

108. Warburg O, Wind F, Negelein E. (1929) The metabolism of tumours in the body. *J Gen Physiol*, 6; 519-30.

109. Cochet A, Generali D, Fox SB, Ferrozzi F, Hicks RJ (2011) Positron emission tomography and neoadjuvant therapy of breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2011:111-115.

- 110.** Boellaard R (2009) Standards for PET image acquisition and quantitative data analysis. *J Nucl Med*, 50 Suppl 1:11S-20S.
- 111.** Morris E D, Endres C J, Schmidt K C, Christian B T, Muic R J and Fisher R E. Kinetic Modeling in Positron Emission Tomography. In Wernick M N and Aarsvold J N (szerk). *Emission Tomography. The Fundamentals of PET and SPECT*. Elsevier Academic Press, San Diego, California, USA. 2004; 499-540.
- 112.** Kelloff GJ, Hoffman JM, Johnson B, Scher HI, Siegel BA, Cheng EY, Cheson BD, O'Shaughnessy J, Guyton KZ, Mankoff DA, Shankar L, Larson SM, Sigman CC, Schilsky RL, Sullivan DC (2005) Progress and promise of FDG-PET imaging for cancer patient management and oncologic drug development. *Clin Cancer Res*, 11:2785-2808.
- 113.** Galuska László: Pozitron Emissziós Tomográfia: PET és PET/CT. In: Szilvási István (szerk.): *Nukleáris Medicina*. Medicina Könykiadó Zrt, Budapest, 2010: 61-78.
- 114.** Shankar LK, Hoffman JM, Bacharach S, Graham MM, Karp J, Lammertsma AA, Larson S, Mankoff DA, Siegel BA, Van den Abbeele A, Yap J, Sullivan D (2006) Consensus recommendations for the use of 18F-FDG PET as an indicator of therapeutic response in patients in National Cancer Institute Trials. *J Nucl Med*, 47:1059-1066.
- 115.** Quantitative Nuclear Medicine Imaging: concepts, requirements and methods. IAEA Human Health Reports No. 9. International Atomic Energy Agency, Vienna, 2014.
- 116.** Adams MC, Turkington TG, Wilson JM, Wong TZ (2010) A systematic review of the factors affecting accuracy of SUV measurements. *Am J Roentgenol*, 195:310-320.
- 117.** Wahl RL, Jacene H, Kasamon Y, Lodge MA (2009) From RECIST to PERCIST: Evolving Considerations for PET response criteria in solid tumors. *J Nucl Med*, 50 Suppl 1:122S-150S.
- 118.** Jaskowiak CJ, Bianco JA, Perlman SB, Fine JP (2005) Influence of reconstruction iterations on 18F-FDG PET/CT standardized uptake values. *J Nucl Med*, 46:424-428.
- 119.** Kaida H, Toh U, Hayakawa M, Hattori S, Fujii T, Kurata S, Kawahara A, Hirose Y, Kage M, Ishibashi M (2013) The relationship between 18F-FDG metabolic volumetric parameters and clinicopathological factors of breast cancer. *Nucl Med Comm*, 34:562-570.
- 120.** Lee SJ, Choi JY, Lee HJ, Baek CH, Son YI, Hyun SH, Moon SH, Kim BT (2012) Prognostic value of volume-based (18)F-fluorodeoxyglucose PET/CT parameters in

patients with clinically node-negative oral tongue squamous cell carcinoma. *Korean J Radiol*, 13:752-759.

121. Larson SM, Erdi Y, Akhurst T, Mazumdar M, Macapinlac HA, Finn RD, Casilla C, Fazzari M, Srivastava N, Yeung HW, Humm JL, Guillem J, Downey R, Karpeh M, Cohen AE, Ginsberg R (1999) Tumor Treatment Response Based on Visual and Quantitative Changes in Global Tumor Glycolysis Using PET-FDG Imaging. The Visual Response Score and the Change in Total Lesion Glycolysis. *Clin Positron Imaging*, 2:159-171.

122. Boellaard R (2011) Need for standardization of 18F-FDG PET/CT for treatment response assessments. *J Nucl Med*, 52 Suppl 2:93S-100S.

123. Rosen EL, Eubank WB, Mankoff DA (2007) FDG PET, PET/CT, and breast cancer imaging. *Radiographics*, 27 Suppl 1:S215-229.

124. Kumar R, Chauhan A, Zhuang H, Chandra P, Schnall M, Alavi A (2006) Clinicopathologic factors associated with false negative FDG-PET in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 98:267-274.

125. Groheux D, Espie M, Giacchetti S, Hindie E (2013) Performance of FDG PET/CT in the clinical management of breast cancer. *Radiology*, 266:388-405.

126. Appropriate Use of FDG-PET for the Management of Cancer Patients. IAEA Human Health Series No.9. International Atomic Agency, Vienna, 2010.

127. Eubank WB, Mankoff DA (2004) Current and future uses of positron emission tomography in breast cancer imaging. *Seminars in Nucl Med*, 34:224-240.

128. Cooper KL, Harnan S, Meng Y, Ward SE, Fitzgerald P, Papaioannou D, Wyld L, Ingram C, Wilkinson ID, Lorenz E (2011) Positron emission tomography (PET) for assessment of axillary lymph node status in early breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*, 37:187-198.

129. Wahl RL, Siegel BA, Coleman RE, Gatsonis CG, Group PETS (2004) Prospective multicenter study of axillary nodal staging by positron emission tomography in breast cancer: a report of the staging breast cancer with PET Study Group. *J Clin Oncol*, 22:277-285.

130. Groheux D, Giacchetti S, Delord M, Hindie E, Vercellino L, Cuvier C, Toubert ME, Merlet P, Hennequin C, Espie M (2013) 18F-FDG PET/CT in staging patients with locally advanced or inflammatory breast cancer: comparison to conventional staging. *J Nucl Med*, 54:5-11.

- 131.** Groheux D, Hindie E, Delord M, Giacchetti S, Hamy AS, de Bazelaire C, de Roquancourt A, Vercellino L, Toubert ME, Merlet P, Espie M (2012) Prognostic impact of (18)FDG-PET-CT findings in clinical stage III and IIB breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 104:1879-1887.
- 132.** Krammer J, Schnitzer A, Kaiser CG, Buesing KA, Sperk E, Brade J, Wasgindt S, Suetterlin M, Schoenberg SO, Sutton EJ, Wasser K (2015) (18) F-FDG PET/CT for initial staging in breast cancer patients - Is there a relevant impact on treatment planning compared to conventional staging modalities? *Eur Radiol*, 25:2460-2469.
- 133.** Groheux D, Giacchetti S, Espie M, Vercellino L, Hamy AS, Delord M, Berenger N, Toubert ME, Misset JL, Hindie E (2011) The yield of 18F-FDG PET/CT in patients with clinical stage IIA, IIB, or IIIA breast cancer: a prospective study. *J Nucl Med*, 52:1526-1534.
- 134.** Wang Y, Zhang C, Liu J, Huang G (2012) Is 18F-FDG PET accurate to predict neoadjuvant therapy response in breast cancer? A meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*, 131:357-369.
- 135.** Emmering J, Krak NC, Van der Hoeven JJ, Spreeuwenberg MD, Twisk JW, Meijer S, Pinedo HM, Hoekstra OS (2008) Preoperative [18F] FDG-PET after chemotherapy in locally advanced breast cancer: prognostic value as compared with histopathology. *Ann Oncol*, 19:1573-1577.
- 136.** Groheux D, Giacchetti S, Espie M, Rubello D, Moretti JL, Hindie E (2011) Early monitoring of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer with 18F-FDG PET/CT: defining a clinical aim. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 38:419-425.
- 137.** Mghanga FP, Lan X, Bakari KH, Li C, Zhang Y (2013) Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography in monitoring the response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy: a meta-analysis. *Clin Breast Cancer*, 13:271-279.
- 138.** Andrade WP, Lima EN, Osorio CA, do Socorro Maciel M, Baiocchi G, Bitencourt AG, Fanelli MF, Damascena AS, Soares FA (2013) Can FDG-PET/CT predict early response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer? *Eur J Surg Oncol*, 39:1358-1363.
- 139.** Ueda S, Tsuda H, Saeki T, Omata J, Osaki A, Shigekawa T, Ishida J, Tamura K, Abe Y, Moriya T, Yamamoto J (2010) Early metabolic response to neoadjuvant letrozole, measured by FDG PET/CT, is correlated with a decrease in the Ki67 labeling

index in patients with hormone receptor-positive primary breast cancer: a pilot study. *Breast Cancer*, 18:299-308.

140. Mortimer JE, Dehdashti F, Siegel BA, Trinkaus K, Katzenellenbogen JA, Welch MJ (2001) Metabolic flare: indicator of hormone responsiveness in advanced breast cancer. *J Clin Oncol*, 19:2797-2803.

141. McLarty K, Fasih A, Scollard DA, Done SJ, Vines DC, Green DE, Costantini DL, Reilly RM (2009) 18F-FDG small-animal PET/CT differentiates trastuzumab-responsive from unresponsive human breast cancer xenografts in athymic mice. *J Nucl Med*, 50:1848-1856.

142. Humbert O, Cochet A, Riedinger JM, Berriolo-Riedinger A, Arnould L, Coudert B, Desmoulins I, Toubreau M, Dygai-Cochet I, Guiu S, Coutant C, Fumoleau P, Brunotte F (2014) HER2-positive breast cancer: F-FDG PET for early prediction of response to trastuzumab plus taxane-based neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 41:1525-33.

143. Groheux D, Giacchetti S, Hatt M, Marty M, Vercellino L, de Roquancourt A, Cuvier C, Coussy F, Espie M, Hindie E (2013) HER2-overexpressing breast cancer: FDG uptake after two cycles of chemotherapy predicts the outcome of neoadjuvant treatment. *Br J Cancer*, 109:1157-1164.

144. Koolen BB, Pengel KE, Wesseling J, Vogel WV, Vrancken Peeters MJ, Vincent AD, Gilhuijs KG, Rodenhuis S, Rutgers EJ, Valdes Olmos RA (2013) FDG PET/CT during neoadjuvant chemotherapy may predict response in ER-positive/HER2-negative and triple negative, but not in HER2-positive breast cancer. *Breast*, 22:691-697.

145. Smith TA, Appleyard MV, Sharp S, Fleming IN, Murray K, Thompson AM (2013) Response to trastuzumab by HER2 expressing breast tumour xenografts is accompanied by decreased Hexokinase II, glut1 and [18F]-FDG incorporation and changes in 31P-NMR-detectable phosphomonoesters. *Cancer Chemother Pharmacol*, 71:473-480.

146. Hatt M, Groheux D, Martineau A, Espie M, Hindie E, Giacchetti S, de Roquancourt A, Visvikis D, Cheze-Le Rest C (2013) Comparison between 18F-FDG PET image-derived indices for early prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Nucl Med*, 54:341-349.

147. Schwarz-Dose J, Untch M, Tiling R, Sassen S, Mahner S, Kahlert S, Harbeck N, Lebeau A, Brenner W, Schwaiger M, Jaenicke F, Avril N (2009) Monitoring primary systemic therapy of large and locally advanced breast cancer by using sequential

positron emission tomography imaging with [18F]fluorodeoxyglucose. *J Clin Oncol*, 27:535-541.

148. Buck AK, Schirrmeister H, Mattfeldt T, Reske SN (2004) Biological characterisation of breast cancer by means of PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 31 Suppl 1:S80-87.

149. Groheux D, Giacchetti S, Moretti JL, Porcher R, Espie M, Lehmann-Che J, de Roquancourt A, Hamy AS, Cuvier C, Vercellino L, Hindie E (2011) Correlation of high 18F-FDG uptake to clinical, pathological and biological prognostic factors in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 38:426-435.

150. Gil-Rendo A, Martinez-Regueira F, Zornoza G, Garcia-Velloso MJ, Beorlegui C, Rodriguez-Spiteri N (2009) Association between [18F]fluorodeoxyglucose uptake and prognostic parameters in breast cancer. *Br J Surg*, 96:166-170.

151. Song B-I, Hong C, Lee H, Kang S, Jeong S, Kim H, Chae Y, Park J, Lee S-W, Ahn B-C, Lee J (2011) Prognostic Value of Primary Tumor Uptake on F-18 FDG PET/CT in Patients with Invasive Ductal Breast Cancer. *Nucl Med Mol Imaging*, 45:117-124.

152. Crippa F, Seregini E, Agresti R, Chiesa C, Pascali C, Bogni A, Decise D, De Sanctis V, Greco M, Daidone MG, Bombardieri E (1998) Association between [18F]fluorodeoxyglucose uptake and postoperative histopathology, hormone receptor status, thymidine labelling index and p53 in primary breast cancer: a preliminary observation. *Eur J Nucl Med*, 25:1429-1434.

153. Sanli Y, Kuyumcu S, Ozkan ZG, Isik G, Karanlik H, Guzelbey B, Turkmen C, Ozel S, Yavuz E, Mudun A (2012) Increased FDG uptake in breast cancer is associated with prognostic factors. *Ann Nucl Med*, 26:345-350.

154. Bos R, van Der Hoeven JJ, van Der Wall E, van Der Groep P, van Diest PJ, Comans EF, Joshi U, Semenza GL, Hoekstra OS, Lammertsma AA, Molthoff CF (2002) Biologic correlates of (18)fluorodeoxyglucose uptake in human breast cancer measured by positron emission tomography. *J Clin Oncol*, 20:379-387.

155. Avril N, Menzel M, Dose J, Schelling M, Weber W, Janicke F, Nathrath W, Schwaiger M (2001) Glucose metabolism of breast cancer assessed by 18F-FDG PET: histologic and immunohistochemical tissue analysis. *J Nucl Med*, 42:9-16.

156. Heudel P, Cimarelli S, Montella A, Bouteille C, Mognetti T (2010) Value of PET-FDG in primary breast cancer based on histopathological and immunohistochemical prognostic factors. *Int J Clin Oncol*, 15:588-593.

- 157.** Kim BS, Sung SH (2012) Usefulness of 18F-FDG uptake with clinicopathologic and immunohistochemical prognostic factors in breast cancer. *Ann Nucl Med*, 26:175-183.
- 158.** Shimoda W, Hayashi M, Murakami K, Oyama T, Sunagawa M (2007) The relationship between FDG uptake in PET scans and biological behavior in breast cancer. *Breast Cancer*, 14:260-268.
- 159.** Tchou J, Sonnad SS, Bergey MR, Basu S, Tomaszewski J, Alavi A, Schnall M (2010) Degree of tumor FDG uptake correlates with proliferation index in triple negative breast cancer. *Mol Imaging Biol*, 12:657-662.
- 160.** Buck A, Schirrmeister H, Kuhn T, Shen C, Kalker T, Kotzerke J, Dankerl A, Glatting G, Reske S, Mattfeldt T (2002) FDG uptake in breast cancer: correlation with biological and clinical prognostic parameters. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 29:1317-1323.
- 161.** Choi J, Jung WH, Koo JS (2013) Metabolism-related proteins are differentially expressed according to the molecular subtype of invasive breast cancer defined by surrogate immunohistochemistry. *Pathobiology*, 80:41-52.
- 162.** Hussein YR, Bandyopadhyay S, Semaan A, Ahmed Q, Albashiti B, Jazaerly T, Nahleh Z, Ali-Fehmi R (2011) Glut-1 Expression Correlates with Basal-like Breast Cancer. *Transl Oncol*, 4:321-327.
- 163.** Osborne JR, Port E, Gonen M, Doane A, Yeung H, Gerald W, Cook JB, Larson S (2010) 18F-FDG PET of locally invasive breast cancer and association of estrogen receptor status with standardized uptake value: microarray and immunohistochemical analysis. *J Nucl Med*, 51:543-550.
- 164.** Koolen BB, Vrancken Peeters MJ, Wesseling J, Lips EH, Vogel WV, Aukema TS, van Werkhoven E, Gilhuijs KG, Rodenhuis S, Rutgers EJ, Valdes Olmos RA (2012) Association of primary tumour FDG uptake with clinical, histopathological and molecular characteristics in breast cancer patients scheduled for neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 39:1830-1838.
- 165.** Doot RK, Dunnwald LK, Schubert EK, Muzi M, Peterson LM, Kinahan PE, Kurland BF, Mankoff DA (2007) Dynamic and static approaches to quantifying 18F-FDG uptake for measuring cancer response to therapy, including the effect of granulocyte CSF. *J Nucl Med*, 48:920-925.
- 166.** Dunnwald LK, Doot RK, Specht JM, Gralow JR, Ellis GK, Livingston RB, Linden HM, Gadi VK, Kurland BF, Schubert EK, Muzi M, Mankoff DA (2011) PET tumor

metabolism in locally advanced breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy: value of static versus kinetic measures of fluorodeoxyglucose uptake. *Clin Cancer Res*, 17:2400-2409.

167. Partridge SC, Vanantwerp RK, Doot RK, Chai X, Kurland BF, Eby PR, Specht JM, Dunnwald LK, Schubert EK, Lehman CD, Mankoff DA (2010) Association between serial dynamic contrast-enhanced MRI and dynamic ¹⁸F-FDG PET measures in patients undergoing neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *J Magn Reson Imaging*, 32:1124-1131.

168. Tseng J, Dunnwald LK, Schubert EK, Link JM, Minoshima S, Muzi M, Mankoff DA (2004) ¹⁸F-FDG kinetics in locally advanced breast cancer: correlation with tumor blood flow and changes in response to neoadjuvant chemotherapy. *J Nucl Med*, 45:1829-1837.

169. Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Livingston RB, Linden HM, Specht JM, Doot RK, Lawton TJ, Barlow WE, Kurland BF, Schubert EK, Mankoff DA (2008) Tumor metabolism and blood flow changes by positron emission tomography: relation to survival in patients treated with neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol*, 26:4449-4457.

170. WHO Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment. Geneva (Switzerland): World Health Organization Offset, Publication No. 48; 1979.

171. Kalina I, Oszlanszky Gy (2014) [Radiological response evaluation of targeted therapy]. *Klin Onkol*, 2:131-137.

172. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, Verweij J, Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Christian MC, Gwyther SG (2000) New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst*, 92:205-216.

173. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J (2009) New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*, 45:228-247.

174. Young H, Baum R, Cremerius U, Herholz K, Hoekstra O, Lammertsma AA, Pruim J, Price P (1999) Measurement of clinical and subclinical tumour response using [¹⁸F]-fluorodeoxyglucose and positron emission tomography: review and 1999 EORTC

recommendations. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) PET Study Group. *Eur J Cancer*, 35:1773-1782.

175. Forrai G, Szabo E, Ormandi K, Ambrozay E, Pentek Z, Milics M, Rajtar M, Sinkovics I (2010) [Imaging methods in the current diagnosis of and screening for breast cancer]. *Magy Onkol*, 54:211-216.

176. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, Aguilar M, Marubini E (2002) Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med*, 347:1227-1232.

177. Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, Deutsch M, Fisher ER, Jeong JH, Wolmark N (2002) Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med*, 347:1233-1241.

178. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative G, Darby S, McGale P, Correa C, Taylor C, Arriagada R, Clarke M, Cutter D, Davies C, Ewertz M, Godwin J, Gray R, Pierce L, Whelan T, Wang Y, Peto R (2011) Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. *Lancet*, 378:1707-1716.

179. Khan SA, Eladoumikdachi F (2010) Optimal surgical treatment of breast cancer: implications for local control and survival. *J Surg Oncol*, 101:677-686.

180. Lazar G, Besznyak I, Boross G, Farsang Z, Gulyas G, Jakab F, Maraz R, Markus B, Toth L (2010) [Current surgical therapy in breast cancer]. *Magy Onkol*, 54:227-234.

181. Tan VK, Goh BK, Fook-Chong S, Khin LW, Wong WK, Yong WS (2011) The feasibility and accuracy of sentinel lymph node biopsy in clinically node-negative patients after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer--a systematic review and meta-analysis. *J Surg Oncol*, 104:97-103.

182. Giuliano AE, McCall L, Beitsch P, Whitworth PW, Blumencranz P, Leitch AM, Saha S, Hunt KK, Morrow M, Ballman K (2010) Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: the American College of Surgeons Oncology Group Z0011 randomized trial. *Ann Surg*, 252:426-432; Discussion: 432-423.

183. Giuliano AE, Hunt KK, Ballman KV, Beitsch PD, Whitworth PW, Blumencranz PW, Leitch AM, Saha S, McCall LM, Morrow M (2011) Axillary dissection vs no

axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial. *JAMA*, 305:569-575.

184. Cserni G, Gregori D, Merletti F, Sapino A, Mano MP, Ponti A, Sandrucci S, Baltas B, Bussolati G (2004) Meta-analysis of non-sentinel node metastases associated with micrometastatic sentinel nodes in breast cancer. *Br J Surg*, 91:1245-1252.

185. Savolt A, Musonda P, Matrai Z, Polgar C, Renyi-Vamos F, Rubovszky G, Kovacs E, Sinkovics I, Udvarhelyi N, Torok K, Kasler M, Peley G (2013) [Optimal treatment of the axilla after positive sentinel lymph node biopsy in early invasive breast cancer. Early results of the OTOASOR trial]. *Orv Hetil*, 154:1934-1942.

186. Pilewskie ML, Morrow M (2014) Management of the clinically node-negative axilla: what have we learned from the clinical trials? *Oncology (Williston Park)*, 28:371-378.

187. Boughey JC, Suman VJ, Mittendorf EA, Ahrendt GM, Wilke LG, Taback B, Leitch AM, Kuerer HM, Bowling M, Flippo-Morton TS, Byrd DR, Ollila DW, Julian TB, McLaughlin SA, McCall L, Symmans WF, Le-Petross HT, Haffty BG, Buchholz TA, Nelson H, Hunt KK, Alliance for Clinical Trials in O (2013) Sentinel lymph node surgery after neoadjuvant chemotherapy in patients with node-positive breast cancer: the ACOSOG Z1071 (Alliance) clinical trial. *JAMA*, 310:1455-1461.

188. Kuehn T, Bauerfeind I, Fehm T, Fleige B, Hausschild M, Helms G, Lebeau A, Liedtke C, von Minckwitz G, Nekljudova V, Schmatloch S, Schrenk P, Staebler A, Untch M (2013) Sentinel-lymph-node biopsy in patients with breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy (SENTINA): a prospective, multicentre cohort study. *Lancet Oncol*, 14:609-618.

189. Chevallier B, Roche H, Olivier JP, Chollet P, Hurteloup P (1993) Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate. *Am J Clin Oncol*, 16:223-228.

190. Sataloff DM, Mason BA, Prestipino AJ, Seinige UL, Lieber CP, Baloch Z (1995) Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J Am Coll Surg* 180:297-306.

191. Pinder SE, Provenzano E, Earl H, Ellis IO (2007) Laboratory handling and histology reporting of breast specimens from patients who have received neoadjuvant chemotherapy. *Histopathology*, 50:409-417.

192. Smith IC, Miller ID (2001) Issues involved in research into the neoadjuvant treatment of breast cancer. *Anticancer Drugs*, 12 Suppl 1:S25-29.

- 193.** Mittendorf EA, Jeruss JS, Tucker SL, Kolli A, Newman LA, Gonzalez-Angulo AM, Buchholz TA, Sahin AA, Cormier JN, Buzdar AU, Hortobagyi GN, Hunt KK (2011) Validation of a novel staging system for disease-specific survival in patients with breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*, 29:1956-1962.
- 194.** Penault-Llorca F, Abrial C, Raoelfils I, Cayre A, Mouret-Reynier MA, Leheurteur M, Durando X, Achard JL, Gimbergues P, Chollet P (2008) Comparison of the prognostic significance of Chevallier and Sataloff's pathologic classifications after neoadjuvant chemotherapy of operable breast cancer. *Hum Pathol*, 39:1221-1228.
- 195.** Jones RL, Lakhani SR, Ring AE, Ashley S, Walsh G, Smith IE (2006) Pathological complete response and residual DCIS following neoadjuvant chemotherapy for breast carcinoma. *Br J Cancer*, 94:358-362.
- 196.** Kiszner G, Wichmann B, Nemeth IB, Varga E, Meggyeshazi N, Teleki I, Balla P, Maros ME, Penksza K, Krenacs T (2014) Cell cycle analysis can differentiate thin melanomas from dysplastic nevi and reveals accelerated replication in thick melanomas. *Virchows Archiv*, 464:603-612.
- 197.** Ali HR, Dawson SJ, Blows FM, Provenzano E, Pharoah PD, Caldas C (2012) Aurora kinase A outperforms Ki67 as a prognostic marker in ER-positive breast cancer. *Br J Cancer*, 106:1798-1806.
- 198.** Wienert S, Heim D, Saeger K, Stenzinger A, Beil M, Hufnagl P, Dietel M, Denkert C, Klauschen F (2012) Detection and segmentation of cell nuclei in virtual microscopy images: a minimum-model approach. *Sci Rep*, 2:503.
- 199.** Powers, D M W (2011) Evaluation: From Precision, Recall and F-Score to ROC, Informedness, Markedness & Correlation". *J Mach Learn Tech*, 2 (1): 37–63.
- 200.** Bland JM, Altman DG (1986) Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1:307-310.
- 201.** Bland JM, Altman DG (1995) Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet*, 346:1085-1087.
- 202.** Bland JM, Altman DG (2003) Applying the right statistics: analyses of measurement studies. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 22:85-93.
- 203.** Zweig MH, Campbell G (1993) Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem*, 39:561-577.
- 204.** Faraggi D (2000) The effect of random measurement error on receiver operating characteristic (ROC) curves. *Stat Med*, 19:61-70.

- 205.** Balmativola D, Marchio C, Maule M, Chiusa L, Annaratone L, Maletta F, Montemurro F, Kulka J, Figueiredo P, Varga Z, Liepniece-Karele I, Cserni G, Arkoumani E, Amendoeira I, Callagy G, Reiner-Concin A, Cordoba A, Bianchi S, Decker T, Glaser D, Focke C, van Diest P, Grabau D, Lips E, Wesseling J, Arisio R, Medico E, Wells C, Sapino A (2014) Pathological non-response to chemotherapy in a neoadjuvant setting of breast cancer: an inter-institutional study. *Breast Cancer Res Treat*, 148:511-523.
- 206.** Ludbrook J (2002) Statistical techniques for comparing measurers and methods of measurement: a critical review. *Clin Exper Pharm Phys*, 29:527-536.
- 207.** Mankoff DA, Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Charlop A, Lawton TJ, Schubert EK, Tseng J, Livingston RB (2002) Blood flow and metabolism in locally advanced breast cancer: relationship to response to therapy. *J Nucl Med*, 43:500-509.
- 208.** Klauschen F, Wienert S, Schmitt W, Loibl S, Gerber B, Blohmer JU, Huober J, Ruediger T, Erbstoesser E, Mehta K, Lederer B, Dietel M, Denkert C, von Minckwitz G (2014) Standardized Ki67 diagnostics using automated scoring - clinical validation in the GeparTrio breast cancer study. *Clin Cancer Res*, 1:3651-3657.
- 209.** Fasanella S, Leonardi E, Cantaloni C, Eccher C, Bazzanella I, Aldovini D, Bragantini E, Morelli L, Cuorvo LV, Ferro A, Gasperetti F, Berlanda G, Dalla Palma P, Barbareschi M (2011) Proliferative activity in human breast cancer: Ki-67 automated evaluation and the influence of different Ki-67 equivalent antibodies. *Diagn Path*, 6 Suppl 1:S7.
- 210.** Konsti J, Lundin M, Joensuu H, Lehtimäki T, Sihto H, Holli K, Turpeenniemi-Hujanen T, Kataja V, Sailas L, Isola J, Lundin J (2011) Development and evaluation of a virtual microscopy application for automated assessment of Ki-67 expression in breast cancer. *BMC Clin Path*, 11:3.
- 211.** Mohammed ZM, McMillan DC, Elsberger B, Going JJ, Orange C, Mallon E, Doughty JC, Edwards J (2012) Comparison of visual and automated assessment of Ki-67 proliferative activity and their impact on outcome in primary operable invasive ductal breast cancer. *Br J Cancer*, 106:383-388.
- 212.** Voros A, Csorgo E, Kovari B, Lazar P, Kelemen G, Ruzs O, Nyari T, Cserni G (2015) Different methods of pretreatment Ki-67 labeling index evaluation in core biopsies of breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy and their relation to response to therapy. *Pathol Oncol Res*, 21:147-155.

- 213.** Mohammed ZM, Going JJ, McMillan DC, Orange C, Mallon E, Doughty JC, Edwards J (2012) Comparison of visual and automated assessment of HER2 status and their impact on outcome in primary operable invasive ductal breast cancer. *Histopathology*, 61:675-684.
- 214.** MacGrogan G, Mauriac L, Durand M, Bonichon F, Trojani M, de Mascarel I, Coindre JM (1996) Primary chemotherapy in breast invasive carcinoma: predictive value of the immunohistochemical detection of hormonal receptors, p53, c-erbB-2, MiB1, pS2 and GST pi. *Br J Cancer*, 74:1458-1465.
- 215.** Romero Q, Bendahl PO, Ferno M, Grabau D, Borgquist S (2014) A novel model for Ki67 assessment in breast cancer. *Diagn Path*, 9:118.
- 216.** Wiesner FG, Magener A, Fasching PA, Wesse J, Bani MR, Rauh C, Jud S, Schrauder M, Loehberg CR, Beckmann MW, Hartmann A, Lux MP (2009) Ki-67 as a prognostic molecular marker in routine clinical use in breast cancer patients. *Breast*, 18:135-141.
- 217.** Haerslev T, Jacobsen GK, Zedeler K (1996) Correlation of growth fraction by Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunohistochemistry with histopathological parameters and prognosis in primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat*, 37:101-113.
- 218.** Trihia H, Murray S, Price K, Gelber RD, Golouh R, Goldhirsch A, Coates AS, Collins J, Castiglione-Gertsch M, Gusterson BA, International Breast Cancer Study G (2003) Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors--a surrogate marker? *Cancer*, 97:1321-1331.
- 219.** Bottini A, Berruti A, Bersiga A, Brizzi MP, Bruzzi P, Aguggini S, Brunelli A, Bolsi G, Allevi G, Generali D, Betri E, Bertoli G, Alquati P, Dogliotti L (2001) Relationship between tumour shrinkage and reduction in Ki67 expression after primary chemotherapy in human breast cancer. *Br J Cancer*, 85:1106-1112.
- 220.** Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Hayashi M, Toyozumi Y, Arima N (2010) Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer subtype and a predictor of recurrence time in primary breast cancer. *Exp Ther Med*, 1:747-754.
- 221.** Keam B, Im SA, Lee KH, Han SW, Oh DY, Kim JH, Lee SH, Han W, Kim DW, Kim TY, Park IA, Noh DY, Heo DS, Bang YJ (2011) Ki-67 can be used for further classification of triple negative breast cancer into two subtypes with different response and prognosis. *Breast Cancer Res*, 13:R22.

- 222.** Mrklic I, Capkun V, Pogorelic Z, Tomic S (2013) Prognostic value of Ki-67 proliferating index in triple negative breast carcinomas. *Pathol Res Pract* 209:296-301.
- 223.** Avril N, Sassen S, Roylance R (2009) Response to therapy in breast cancer. *J Nucl Med*, 50 Suppl 1:55S-63S.
- 224.** Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP (2005) Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*, 97:188-194.
- 225.** Burcombe R, Wilson GD, Dowsett M, Khan I, Richman PI, Daley F, Detre S, Makris A (2006) Evaluation of Ki-67 proliferation and apoptotic index before, during and after neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer. *Breast Cancer Res*, 8:R31.
- 226.** Ueda S, Saeki T, Shigekawa T, Omata J, Moriya T, Yamamoto J, Osaki A, Fujiuchi N, Misumi M, Takeuchi H, Sakurai T, Tsuda H, Tamura K, Ishida J, Abe Y, Imabayashi E, Kuji I, Matsuda H (2012) 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography optimizes neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer to achieve pathological complete response. *Int J Clin Oncol*, 17:276-282.
- 227.** Jung SY, Kim SK, Nam BH, Min SY, Lee SJ, Park C, Kwon Y, Kim EA, Ko KL, Park IH, Lee KS, Shin KH, Lee S, Kim SW, Kang HS, Ro J (2010) Prognostic Impact of [18F] FDG-PET in operable breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Oncol*, 17:247-253.
- 228.** Gennari A, Piccardo A, Altrinetti V, Corradengo D, Villavecchia G, De Censi A (2012) Whither the PET scan? The role of PET imaging in the staging and treatment of breast cancer. *Curr Oncol Rep*, 14:20-26.
- 229.** Cintolo JA, Tchou J, Pryma DA (2013) Diagnostic and prognostic application of positron emission tomography in breast imaging: emerging uses and the role of PET in monitoring treatment response. *Breast Cancer Res Treat*, 138:331-346.
- 230.** Denkert C, Loibl S, Muller BM, Eidtmann H, Schmitt WD, Eiermann W, Gerber B, Tesch H, Hilfrich J, Huober J, Fehm T, Barinoff J, Jackisch C, Prinzler J, Rudiger T, Erbstosser E, Blohmer JU, Budczies J, Mehta KM, von Minckwitz G (2013) Ki67 levels as predictive and prognostic parameters in pretherapeutic breast cancer core biopsies: a translational investigation in the neoadjuvant GeparTrio trial. *Ann Oncol*, 24:2786-2793.
- 231.** Untch M, Rezai M, Loibl S, Fasching PA, Huober J, Tesch H, Bauerfeind I, Hilfrich J, Eidtmann H, Gerber B, Hanusch C, Kuhn T, du Bois A, Blohmer JU, Thomssen C, Dan Costa S, Jackisch C, Kaufmann M, Mehta K, von Minckwitz G

(2010) Neoadjuvant treatment with trastuzumab in HER2-positive breast cancer: results from the GeparQuattro study. *J Clin Oncol*, 28:2024-2031.

232. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, Gerber B, Eiermann W, Hilfrich J, Huober J, Jackisch C, Kaufmann M, Konecny GE, Denkert C, Nekljudova V, Mehta K, Loibl S (2012) Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol*, 30:1796-1804.

233. Keam B, Im SA, Koh Y, Han SW, Oh DY, Cho N, Kim JH, Han W, Kang KW, Moon WK, Kim TY, Park IA, Noh DY, Chung JK, Bang YJ (2013) Predictive value of FDG PET/CT for pathologic axillary node involvement after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer*, 20:167-173.

234. Groheux D, Hindie E, Giacchetti S, Delord M, Hamy AS, de Roquancourt A, Vercellino L, Berenger N, Marty M, Espie M (2012) Triple-negative breast cancer: early assessment with 18F-FDG PET/CT during neoadjuvant chemotherapy identifies patients who are unlikely to achieve a pathologic complete response and are at a high risk of early relapse. *J Nucl Med*, 53:249-254.

235. Iqbal S, Anderson TJ, Marson LP, Prescott RJ, Dixon JM, Miller WR (2002) MIB-1 assessments in breast cancers. *Breast*, 11:252-256.

10. Saját publikációk jegyzéke

10.1. A disszertációval összefüggő közlemények – eredeti közlemények

Tőkés T, Torgyík L, Szentmártoni Gy, Somlai K, Kulka J, Lengyel Zs, Györke T, Dank M. (2015) Complexity of Respose Evaluation During Primary Systemic Therapy of Breast Cancer: Scoring Systems and Beyond – Preliminary Results. *Anticancer Res.* 35: 5063-72.

IF: 1.826

Tőkés T, Szentmártoni Gy, Torgyík L, Kajáry K, Lengyel Zs, Györke T, Molnár B Á, Tőkés AM, Kulka J, Dank M. (2015) Response evaluation after primary systemic therapy of Her2 positive breast cancer - an observational cross-sectional study. *Croat Med J.* 56: 128-38.

IF: 1.305

Tőkés T, Torgyík L, Kulka J, Borka K, Szasz AM, Tóth A, Harsányi L, Lengyel Zs, Györke T, Dank M. (2014) FDG-PET-CT in the early response evaluation for primary systemic therapy of breast cancer. *Cent Eur J Med*, 9: 306-312.

IF: 0.153

Kajáry K, Tőkés T, Dank M, Kulka J, Szakáll S Jr, Lengyel Zs. (2015) Correlation of the value of 18F-FDG uptake, described by SUVmax, SUVavg, metabolic tumour volume and total lesion glycolysis, to clinicopathological prognostic factors and biological subtypes in breast cancer. *Nuclear Med Comm*, 36: 28-37.

IF: 1.669

Tőkés T, Somlai K, Székely B, Kulka J, Szentmártoni Gy, Torgyík L, Galgóczy H, Lengyel Zs, Györke T, Dank M. (2012) Az FDG-PET-CT szerepe az emlőrák primer szisztémás kezelése során: a metabolikus változások és a patológiai remisszió összefüggései. *Orv Hetil*, 153: 1958-64.

10.2. A disszertációval összefüggő közlemények – összefoglaló közlemények

Tőkés T, Torgyík L, Szentmártoni Gy, Somlai K, Tóth A, Kulka J, Dank M. (2015) Primary systemic therapy for breast cancer: Does the patient's involvement in decision-making create a new future? *Patient Educ Couns*, 98: 695-703.

IF: 2.199

Tőkés T, Szentmártoni Gy, Lengyel Zs, Györke T, Dank M. (2014) Tumorválasz mérése az emlőrák primer szisztémás kezelése során, *Lege Artis Medicinae*, 24: 99-105.

Dank M, Tőkés T. (2013) Monoklonális antitest-terápia emlőrákban. *Magy Onkol*, 57: 157-165.

Tőkés T, Kajáry K, Torgyík L, Lengyel Zs, Györke T, Dank M. (2013) PET-CT imaging in breast cancer patients: new tracers, future directions. *J Mol Imaging Dynam*, 2: 111-116.

10.3. A disszertációtól független közlemények

Dank M, Szentmártoni Gy, Orosz Zs, Tóth A, Tőkés T (2014). Immun(onko)terápia – út a jövőbe. *Klin Onkol*, 1:237-243.

Dank M, Szentmártoni Gy, Tőkés T. (2014) Genetika az általános onkológiában. *Magyar Belorvosi Archivum*, 67: 363-365

Dank M, Nagy Zs, Sebők S, Tőkés T. (2013) Orális mukozitisz. *Orvostovábbképző Szemle*, 20: 9-13.

Györke T, Tőkés T, Lantos A, Korom Cs, Gyebnár J, Garai I, Tóth Z, Szepesi Á, Timár B, Demeter J, Nagy Z, Sári E, Illés Á, Gergely L, Sipos A, Mikala G, Masszi T. (2013) Két ciklus kemoimmunoterápia után végzett interim FDG-PET prognosztikai értéke diffúz nagy B-sejtes lymphoma esetén: a vizuális és szemikvantitatív értékelés összehasonlítása. *Magyar Radiológia*, 87: 43-55.

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Dank Magdolna Docens Asszonynak, tudományos és klinikai munkám során nyújtott szüntelen támogatásáért és útmutatásáért.

Köszönöm Dr. Bérczi Viktor és Dr. Szathmári Miklós Professzor Uraknak, hogy megteremtették a feltételeket kutatásaim elvégzéséhez. Köszönöm a Patológiai Tudományok Doktori Iskola vezetőjének, Dr. Kovalszky Ilona Professzor Asszonynak, hogy PhD tanulmányaimat magas színvonalon végezhettem el.

Hálás vagyok dr. Györke Tamás Docens Úrnak, a SE Nukleáris Medicina Tanszékének, és a Scanomed PET/CT Központ munkatársának, aki megszerettette velem a PET/CT képalkotás és a nukleáris medicina bonyolult világát, s felkeltette érdeklődésemet a tudományos kutatás iránt.

Dr. Lengyel Zsolt Főorvos Úr, a Pozitron Diagnosztika Központ Orvosigazgatója rengeteg segítséget adott munkám során, s hosszú évek óta biztosítja számomra a PET/CT vizsgálatok értékeléséhez és a dinamikus vizsgálatok elvégzéséhez szükséges személyi és technikai feltételeket. Köszönet illeti Kajáry Kornélia Főorvosnőt, akitől közös munkánk során oly sokat tanulhattam.

Nagyrabecsülésem szeretném kifejezni Dr. Tőkés Anna-Máriának a SE II.sz. Patológiai Intézetéből, aki végtelen türelmével és szakmai tudásával segítette munkámat. Építő kritikája és gyakorlati útmutatásai nélkülözhetetlenek voltak. Hálával tartozom továbbá Dr. Kulka Janina Professzor Asszonynak, aki már egyetemista koromban megszerettette velem az emlőpatológiát, és hasznos tanácsaival TDK hallgatóként, majd PhD hallgatóként is segítette kutatásaimat. Köszönettel tartozom Azumahné Kovács Erzsébet asszisztensnek a patológiai metszetek elkészítésében nyújtott segítségéért, és Rigóné Kálé Elvirának, aki az elkészült angol nyelvű cikkek lektoraként segítette a publikációk megjelenését.

Patológiai kutatásaim és a sejtciklus markereket célzó vizsgálataim nem jöhettek volna létre a SE I.számú Kísérleti Rákkutató és Patológiai Intézetének munkatársai nélkül. Köszönettel tartozom Dr. Krenács Tibornak, aki befogadott az általa vezetett Molekuláris és Digitális Patomorfológiai Laboratóriumba, és tanácsaival folyamatosan újabb és újabb kutatási kérdések megválaszolására sarkallt. Hálás vagy továbbá Dr. Kiszner Gergőnek és Parsch Editnek, akik megismertették velem az immunhisztokémia

és a digitális patológia gyakorlati világát, és a baráti légkört, melyben velük dolgozhattam.

Mind TDK hallgatóként, mind PhD-hallgatóként rengeteget tanultam a Semmelweis Egyetem I.sz. Belgyógyászati Klinika Onkológiai Részlegének valamint a SE Radiológiai és Onkoterápiás Klinikájának és Nukleáris Medicina Tanszékének munkatársaitól, akik állandó segítőkészségükkel és hasznos tanácsaikkal mind klinikai munkámat mind kutatásom megvalósulását segítették. Külön köszönet illeti Dr. Szentmártoni Gyöngyvér, Dr. Székely Borbála és Dr Somlai Krisztián PhD-hallgatókat és Dr. Torgyik László Főorvos Urat szakmai támogatásukért és gyakorlati tanácsaikért.

Dr. Orosz Zsuzsanna dolgozatom házi bírálata során építő kritikájával sokat segített egy magasabb színvonalú munka elkészítésében.

Hálás vagyok minden szerzőtársamnak, aki hozzájárult publikációink megjelenéséhez és minden betegünknek, akik adataikat rendelkezésünkre bocsátották kutatásaink során, s mindvégig méltósággal viselik betegségüket.

Végezetül, de nem utolsó sorban köszönettel tartozom családomnak és barátaimnak, akik mindvégig támogattak munkám során; kiváltképp Szüleimnek, akik segítettek orvosi pályára lépésemet, de mindenekelőtt olyan értékrendet és szemléletet tanítottak nekem, mely egész életemben biztos háttérrel ad majd, és Vőlegényemnek, aki hosszú évek óta megértéssel és szeretettel tekint hivatásomra és tudományos munkámra.