

**Oddelenie patológie UNLP Košice, Cytopathos, s.r.o. Bratislava, Cytolab, s.r.o. Košice a Klinická  
patológia s.r.o. Prešov**

pod záštitou

Slovenskej spoločnosti patológov a Slovenskej divízie IAP

Slovenskej dermatovenerologickej spoločnosti

Společnosti českých patológů a České divize IAP

Lekárskej fakulty UPJŠ

## **18. ZJAZD SLOVENSKÝCH A ČESKÝCH PATOLÓGOV**

**23. – 25. 9. 2010, Dom umenia, Košice**

# **ABSTRAKTY**



ISBN 978-80-7097-829-0

# Prednášky

## **Detekcia mutácií EGFR a ich význam pre terapiu nemalobunkového karcinómu pľúc.**

Babál Pavel, Hlinková Katarína, Černá Andrea, Janegová Andrea, Ilenčíková Denisa

Ústav patologickej anatómie LFUK v Bratislave  
Oddelenie lekárskej genetiky NOÚ, Bratislava

**Úvod:** Nádory pľúc sú vedúcou príčinou smrti v Slovenskej Republike. Nádory pľúc zhruba delíme na dve skupiny, malobunkový a nemalobunkové karcinómy pľúc (NSCLC, non-small cell lung carcinoma), ktoré predstavujú okolo 80%. Chemoterapia NSCLC je relatívne málo účinná s 5-ročným prežívaním 5-18%. V súčasnosti je gefitinib, inhibítor tyrozínovej kinázy EGFR, odsúhlasený na liečbu NSCLC na Slovensku. Niektoré mutácie EGFR, hlavne v exonoch 19 a 21, sú spájané s klinickou odpoveďou.

**Materiál a metódy:** Na NOÚ sme zaviedli detekciu aktivujúcich mutácií delE746\_A750 a L858R z cytologického materiálu denaturačnou metódou s vysokým rozlíšením (high resolution melting analysis (HRMA) a na mutácie obohatenou PCR (mutant enriched PCR, ME-PCR). Výsledky boli overené priamou sekvenáciou. Postup sme overili na 121 cytologických preparátoch od pacientov s NSCLC.

**Výsledky:** Mutácie EGFR boli zistené v 9 prípadoch (7,4 %), 5 prípadov delécie v exone 19 a 6 prípadov mutácií v exone 21. Z 9 pozitívít metódou HRMA sa sekvenáciou potvrdilo 5 prípadov. V týchto prípadoch bol v cytologických preparátoch podiel nádorových buniek >25 %. V ostatných prípadoch bol nález potvrdený až po aplikácii ME-PCR. V dvoch prípadoch sa jednalo o prítomnosť mutácií v oboch exonoch.

**Záver:** Naše výsledky ukázali, že HRMA a ME-PCR sú citlivé metódy na detekciu mutácií EGFR. Kvantifikácia zastúpenia nádorových buniek v cytologickom preparáte je potrebná pre voľbu metód genetického vyšetrenia.

# POTENCIONÁLNÍ PREDIKTORY MNOHOČETNÉ LÉKOVÉ REZISTENCE U NEMALOBUNĚČNÝCH KARCINOMŮ PLIC.

ŠKARDA J.

ÚSTAV PATOLOGIE LF. UP A FN . OLOMOUC.

Jednou z příčin neúspěšnosti chemoterapie při léčbě nemalobuněčného karcinomu plic je výskyt mnohočetné lékové rezistence. Z uvedeného důvodu jsme studovali expresi MDR asociovaných proteinů v rámci jednotlivých histologických subtypů nemalobuněčného karcinomu plic. Z hlediska exprese MDR asociovaných proteinů Pgp, MRP a LRP, nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly v expresi těchto MDR asociovaných proteinů mezi histologickými subtypy nemalobuněčného karcinomu plic. Byla však zjištěna signifikantně vyšší exprese proteinu p53 a topoizomerázy II $\alpha$  spinocelulárních karcinomů plic ve srovnání s adenokarcinomy. Nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly v expresi Bcl-2, pRb1, hMLH1 a hMSH2 mezi histologickými subtypy nemalobuněčného karcinomu plic.

V další části studie jsme sledovali prognostický význam imunohistochemické exprese MDR asociovaných proteinů u pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic ve stadiu III. Pacienti s adjuvantní chemoterapií exprimující Pgp, MRP, současně Pgp a MRP a p53 měli signifikantně kratší přežívání ve srovnání s pacienty, kteří dané proteiny neexprimovali a podstoupili adjuvantní chemoterapii. Pacienti s adjuvantní chemoterapií, kteří exprimovali MRP, současně Pgp a MRP, Topo II $\alpha$  p53, měli také signifikantně kratší interval bezpříznakového období ve srovnání s pacienty, kteří dané proteiny neexprimovali.

Ve třetí části práce jsme korelovali výsledky testu viability primárních nádorových buněk (MTT) s imunohistochemickou expresí MDR asociovaných proteinů. Byla zjištěna signifikantní korelace mezi imunohistochemickou expresí Pgp a rezistencí na aktinomycin D a navelbin.

## Pro-apoptózový s B-bunkovým CLL/lymfómovým onkoproteínom 2 združený X proteín v normálnom a v nádorovo zmenenom endometriu

Vladimír Šišovský<sup>1,2,3</sup>, Michal Palkovič<sup>1,2</sup>, Ján Porubský<sup>1</sup>, Ľudovít Danihel<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského a Univerzitná nemocnica, Bratislava

<sup>2</sup>Patologicko-anatomické pracovisko, Úrad pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou, Bratislava

<sup>3</sup>Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava  
*sisovsky.v.research@gmail.com*

**ÚVOD:** Karcinóm endometria (CaE), najčastejší so stúpajúcim výskytom zhubný nádor ženskej pohlavnej sústavy, má rôzne histologické podtypy. Tie delia do 2 základných typov CaE, typ I (endometrioidný) (vzniká v hyperplázii endometria, závisle od estrogénu, má menej agresívne biologické správanie) a typ II (ne-endometrioidný) (vzniká v atrofii endometria, nezávisle od estrogénu, má agresívne biologické správanie). 21 kDa s B-bunkovým CLL/lymfómovým onkoproteínom 2 (BCL-2) združený X proteínový (BAX) pro-apoptózový partner patrí do BCL-2 skupiny proteínov (proti- alebo pro-apoptózové regulátory bunky). Proteín BAX sa nachádza aj na vonkajšej membráne mitochondrie bunky. Nadmerná expresia *Bax* urýchľuje programovanú smrť bunky prejavujúca sa ako apoptóza. Jeho úloha v CaE je zväčša nejasná. **CIEĽ:** Hodnotiť vzťah medzi morfológiou normálneho endometria a nádorovo zmeneného endometria, a medzi stupňom expresie *Bax*. **MATERIÁL A METÓDY:** 38 formalínom fixovaných a v parafíne zaliatých bioptických (po kyretovaní či hysterektómii) vzoriek s normálnym proliferujúcim endometriom (PE), endometrioidným (EC) stupňa histologického diferencovania G1 a G3 a seróznym (SC) histologickým podtypom CaE žien Slovenska sme vyšetrili imunohistochemicky (IHC), svetelným mikroskopom semikvantitatívne, na expresiu *Bax* v cytoplazme epitelových buniek endometria. **VÝSLEDKY:** V PE expresia *Bax* bola nepravidelne slabá až žiadna. V CaE, expresia *Bax* sa postupne zvyšovala so stupňom histologického diferencovania EC (typ I CaE) a ďalej k SC (typ II CaE). **ZÁVER:** K nízkej expresii *Bax* dochádza v PE. Nádorovú zhubnú premenu endometria sprevádza nárast expresie *Bax*, pričom jej najvyšší nárast sa spája s agresívnym typom CaE. BAX hodnotený IHC by mohol byť dôležitým a využiteľným faktorom v biomedicínskom výskume a klinickej praxi. *Podporené grantom 2007/28-UK-05 MZ SR „IHC a molekulovo-genetická analýza CaE“ a guvernéra 2006-07 LCI D-122 ČR & SR, Ing. T. Bučeka.*

Borderline papilárny serózny tumor fimbrií vajcovodu - kazuistika a prehľad literatúry.

Ondič O., Kališ V., Šíma R., Grossmann P.

ŠPAÚ a Gynekologicko-porodnická klinika FN Plzeň  
Biopická laboratoř s.r.o., Plzeň

Borderline papilárny serózny tumor vajcovodu bol ako jednotka popísaný v roku 2000. S prezentovaným prípadom je popísaných spolu 7 kazuistík. Diagnostika sa opiera o histomorfologické znaky korešpondujúce s ovariálnym protipólom - seróznym borderline tumorom. Ojedinelá genetická analýza doposiaľ odhalila diploiditu 1 tumoru a naše vyšetrenia zaznamenali absenciu mutácie génov KRAS, BRAF a p53. Klinické príznaky pacientiek boli vždy nešpecifické, tak ako i u našej 41 ročnej pacientky s dyspareuniou, dysúriou a bolesťami v podbrušku. Stav bol riešený operačne bilaterálnou adnexektómiou, hysterektómiou a omentektómiou. Zaznamenali sme prítomnosť implantov na povrchu oboch ovárií a na viscerálnom peritoneu. Pacientka bola 6 mesiacov po výkone bez známok recidívy. Maximálne zdokumentované prežívanie pacientky s takýmto nádorom je 9 rokov.

## Expresia cyklínu D1 v nádoroch štítnej žľazy.

Lucia Feketeová<sup>1</sup>, Andrea Janegová<sup>1</sup>, Emília Klincová<sup>1</sup>, Pavol Janega<sup>1,2</sup>, Pavel Babál<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

<sup>2</sup>Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava

**Úvod:** Nádory štítnej žľazy patria medzi časté a závažné endokrinné choroby postihujúce významnú časť populácie. Nádorové bunky sú známe svojim nekontrolovaným rastom a delením sa. Bunkový cyklus a vstup buniek do aktívnej S fázy je kontrolovaný mnohými molekulami. Jednou z nich je cyklín D1, ktorý sa nachádza v cytoplazme buniek v neaktívnej forme. Pri mnohých nádoroch je pozorovaná zvýšená expresia cyklínu D1, ktorá koreluje so skorým nástupom nádorovej choroby a tiež s rizikom nádorovej progresie a metastázovania. Expresia cyklínu D1 je ovplyvňovaná aj prostredníctvom dráhy mediovanej nukleárnym faktorom- $\kappa$ B (NF $\kappa$ B). Neaktívny NF $\kappa$ B je uskladnený v cytosole bunky vo väzbe s proteínom I $\kappa$ B $\alpha$ . Aktiváciou kináz (IKK) dochádza k fosforylácii I $\kappa$ B $\alpha$ . Tá umožní uvoľnenie NF $\kappa$ B z väzby a jeho presun do jadra, kde sa viaže na DNA a podieľa sa na aktivácii proteosyntézy. Cieľom prezentovanej štúdie bolo overiť expresiu cyklínu D1 a aktiváciu dráhy NF $\kappa$ B v rôznych nádoroch štítnej žľazy.

**Metodika:** Použitý bol súbor 69 archívnych bioptických vzoriek tkaniva štítnych žliaz, ktoré obsahovali prípady folikulárneho adenómu (11), folikulárneho karcinómu (20), medulárneho karcinómu (18), papilárneho karcinómu (10) a folikulárnej varianty papilárneho karcinómu (7). Prípady parenchymatóznej strumy (3) boli hodnotené ako kontroly. Hodnotili sme pozitivitu cyklínu D1 a NF $\kappa$ B, aktivácia dráhy NF $\kappa$ B bola sledovaná na základe pozitivity aktivovanej formy I $\kappa$ B $\alpha$  (p-IKK). Expresia proteínov bola detegovaná imunohistochemicky a vyhodnotená semikvantitatívne nasledovne: v prípade viac ako 30% pozitívnych buniek - pravidelná pozitivita, v prípade menej ako 30% pozitívnych buniek - ložisková pozitivita, menej ako 10% pozitívnych buniek nepravidelná pozitivita. Intenzita pozitivity bola hodnotená ako: ++ silná pozitivita, + jemne zrnitá slabá pozitivita, - negativita.

**Výsledky:** V kontrolných vzorkách parenchymatóznej strumy bola prítomná len slabá cytoplazmová pozitivita NF $\kappa$ B, p-IKK, ani cyklín D1 nevykazovali pozitivitu. NF $\kappa$ B bol pravidelne exprimovaný vo všetkých nádoroch štítnej žľazy bez ohľadu na dignitu. V 5/20 prípadov folikulárneho karcinómu (25%), 6/10 prípadov klasického variantu papilárneho karcinómu (60%), 3/7 prípadov folikulárneho variantu papilárneho karcinómu (43%) a 3/18 prípadov medulárneho karcinómu (17%) sme zaznamenali pravidelnú pozitivitu fosforylovaného I $\kappa$ B $\alpha$ . Cyklín D1 vykazoval slabú pozitivitu v 5 prípadoch (42%) benígneho folikulárneho adenómu, v 7 prípadoch (35%) folikulárneho karcinómu, v 16 prípadoch (89%) medulárneho karcinómu, v 5 prípadoch (50%) klasického variantu papilárneho karcinómu a v 1 prípade folikulárneho variantu papilárneho karcinómu. Pravidelne silne pozitívny bol v 4 prípadoch folikulárneho karcinómu (20%), 3 prípadoch medulárneho karcinómu (17%), 3 prípadoch klasického variantu papilárneho karcinómu (30%). V prípadoch folikulárneho variantu papilárneho karcinómu sme silnú pozitivitu cyklínu D1 nepozorovali.

**Diskusia:** Význam hodnotenia expresie cyklínu D1 bol už v minulosti podporený mnohými štúdiami v prípade iných nádorov, výsledky v tkanive štítnej žľazy sú však nejasné. Naše výsledky poukázali na pravidelnú silnú expresiu cyklínu D1 najmä v prípadoch malígnych nádorov štítnej žľazy. Kontrolné strumy cyklín D1 neexprimovali, len v 4 prípadoch benígneho adenómu sme pozorovali jemne zrnitú pozitivitu. Nález nízkej expresie cyklínu D1 v benígnych tumoroch bol už opísaný aj v iných štúdiách, samotný nález pozitivity preto nemá priamy diagnostický potenciál. Viaceré štúdie ale poukázali na prognostický význam hodnotenia tohto markera. Zvýšená expresia sa spája s horšou prognózou, ako aj s vyšším

rizikom vzniku metastáz. Pozorovali sme, že charakter expresie tohto markera umožňuje rozdeliť prípady malígnych nádorov na tie s pravidelnou pozitivitou a bez positivity resp. so slabou pozitivitou. Bude preto v budúcnosti zaujímavé korelovať výsledky s klinickými údajmi o prežívaní pacientov a ich reakcii na liečbu. Ak sa tieto výsledky potvrdia aj v budúcnosti na rozšírenom súbore, môžu byť perspektívne aj s ohľadom na terapiu nádorov štítnej žľazy.

*Riešenie bolo podporené grantovou úlohou Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky "Diagnostické problémy ochorení štítnej žľazy – nové trendy v molekulárnej diagnostike" pod číslom 2006/23-UK-02.*



## Hodnotenie pomeru expresie sialyltransferáz a neuraminidáz v diagnostike patologických stavov štítnej žľazy

Pavol Janega<sup>1,2</sup>, Peter Celec<sup>1</sup>, Andrea Janegová<sup>1</sup>, Emília Klincová<sup>1</sup>, Pavel Babál<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

<sup>2</sup>Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

<sup>3</sup>Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied.

**Úvod:** Štítina žľaza patrí ku kľúčovým endokrinným orgánom regulujúcim metabolické deje v organizme. Známa je obtiažnou diferenciálnou diagnostikou benígnych a malígnych procesov, najmä tých s folikulárnou diferenciáciou. Žiadny samostatný marker doposiaľ nepreukázal jednoznačný diferenciálno-diagnostický potenciál. Patologické zmeny v tkanivách sú sprevádzané zmenami enzymatických vlastností buniek, vrátane zmien glykozylácie bunkových štruktúr. Dôležitú úlohu tu zohráva aj kyselina sialová, lokalizovaná v terminálnej pozícii ich oligosacharidových reťazcov. Cieľom prezentovanej práce bolo posúdiť možnosti využitia hodnotenia expresie enzýmov zodpovedných za sialyzáciu bunkových štruktúr v diagnostike chorôb štítnej žľazy.

**Metódy:** Hodnotený súbor tvorili prípady malígnych nádorov štítnej žľazy – klasického papilárneho karcinómu, folikulárneho variantu papilárneho karcinómu, folikulárneho, anaplastického a medulárneho karcinómu; benígneho mikrofolikulárneho adenómu a prípady najčastejšie diagnostikovanej autoimunitnej choroby štítnej žľazy – Hashimotovej tyreoiditídy. Prítomnosť jednotlivých typov sialyltransferáz v tkanive bola overená metodikou real-time RT-PCR použitím špecifických primerov pre sialyltransferázy SIAT1, 4A, 4B, 4C, 6, 7B, 8B a neuraminidázy NEU1 a 2.

**Výsledky:** Prípady mikrofolikulárneho adenómu sa od parenchymatóznej strumy štítnej žľazy neodlišovali v expresii žiadneho hodnoteného markera. Najvýraznejšie zmeny je možné pozorovať v prípadoch dobre diferencovaných papilárnych a folikulárnych karcinómov, kde zvýšenie expresie sialyltransferázy 4B resp. 4C je sprevádzané súčasným poklesom expresie neuraminidázy NEU1 resp. NEU2. V prípade nediferencovaného anaplastického karcinómu dochádza k vzostupu expresie sialyltransferázy SIAT4B a SIAT4C sprevádzaným vzostupom expresie neuraminidázy NEU2. Podobný nález nachádzame aj v medulárnom karcinóme štítnej žľazy. Autoimunitné zápaly sa prejavujú celkovo nízkou expresiou sialyltransferáz a neuraminidáz v tkanive v porovnaní s nenádorovými strumami.

**Záver:** Výsledky prezentovanej práce dokumentujú, že nádorové a autoimunitné procesy štítnej žľazy sú spojené s hodnotiteľnými zmenami pozitivity kyseliny sialovej v postihnutom tkanive. Výsledky našej štúdie ukázali, že viac ako expresia jednotlivých markerov je táto pozitivita závislá od rovnováhy medzi sialyltransferázami a neuraminidázami v zmenenom tkanive. Vzostup sialyltransferázy SIAT4B a 4C s poklesom neuraminidázy NEU2 sa môže podieľať na vzostupe sialyzácie glykoproteínov pri dobre diferencovaných karcinómoch štítnej žľazy. Naopak výrazný vzostup neuraminidázy NEU2 môže vysvetliť pokles sialyzácie proteínov pri medulárnom karcinóme. Ak sa tieto zmeny potvrdia aj v budúcnosti, môžu predstavovať zaujímavý pomocný diferenciálno-diagnostický údaj.

*Riešenie bolo podporené grantovou úlohou Agentúry pre podporu vedy a výskumu APVV-20-025204 a následne grantovou úlohou Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky "Diagnostické problémy ochorení štítnej žľazy – nové trendy v molekulárnej diagnostike" pod číslom 2006/23-UK-02.*

# LÉZIE Z KOLUMNÁRNYCH BUNIEK – SÚČASNÝ STAV POZNATKOV A ICH VÝZNAM V EVOLÚCII KARCINÓMU PRSNÍKA

<sup>1, 2</sup>Kajo K, <sup>3</sup>Žúbor P, <sup>4</sup>Pohlodek K.

<sup>1</sup>Ústav patologickej anatómie JLF UK a UNM, Martin; <sup>2</sup>BB BIOCYT diagnostické centrum, s.r.o. Banská Bystrica; <sup>3</sup>Gynekologicko-pôrodnická klinika, JLF UK a UNM, Martin;

<sup>4</sup>II. Gynekologicko-pôrodnická klinika, LF UK, Bratislava

## Abstrakt

Nárastom záchytu mamografických abnormalít v prsníku sa zvyšuje počet lézií z kolumnárnych buniek („columnar cell lesions“ - CCL). Tieto sú charakterizované dilatáciou terminálnej dukto-lobulárnej jednotky a nálezom jednej alebo viacerých vrstiev kolumnárnych buniek bez / alebo s atypiou. CCL sú v literatúre označované pod viacerými pojmami tiež ich klasifikácia nie je jednotná.

Cieľom prezentácie je poukázať na základné histomorfologické charakteristiky a klasifikáciu týchto lézií s dôrazom na ich klinický a biologický význam a manažment tak, ako bolo dohodnuté na konferencii Senológia 2010 konanej v Bratislave 19.06.2010.

CCL sa rozdeľujú na základe počtu vrstiev na *zmeny kolumnárnych buniek* - CCC (1 až 2 vrstvy kolumnárnych buniek) a *hyperplázia kolumnárnych buniek* – CCH (viac vrstiev). Ak sú CCC alebo CCH spojené s low-grade cytologickou atypiou, potom sa označujú ako *plochá epitelová atypia* – FEA („flat epithelial atypia“).

Poznanie biologickej povahy týchto lézií má rozhodujúci význam pre správny manažment a má predísť pod-, resp. nadliečeniu pacientov s týmito abnormitami. Väčšina CCL predstavuje benígne lézie, avšak FEA sa považuje za non-obligatórny prekursor low-grade karcinómov prsnej žľazy, a preto pri jeho náleze v core-cut biopsiách sa odporúča chirurgická excízia.

*Práca bola podporená projektom „Centrum excelentnosti pre perinatologický výskum“, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ (ITMS 26220120016).*

**Využití metody FISH u diagnosticky obtížných melanomových lézí – kazuistika.  
Patricie Delongová, Ústav patologie , Fakultní nemocnice Ostrava**

**Background:** Maligní melanom je vysoce zhoubný, především kožní nádor s celosvětově stoupající incidencí přes 4% ročně. Některé formy nevocelulárních lézí jsou z pohledu morfologa diagnostickým problémem. Správné stanovení biologické povahy těchto neuroektodermových nádorů je jednou ze základních podmínek správné léčby. I když mnoho případů může být spolehlivě klasifikováno podle současných histopatologických kritérií, existuje určitá skupina případů, kdy nedochází ke shodě ani mezi experty.

**Methods:** Na základě publikovaných prací a současně s přispěním vlastních poznatků při diagnostice obtížných kožních nevocelulárních lézí jsme zavedli metodiku fluorescenční in situ hybridizace (FISH) za použití kombinované sondy Vysis LSI RREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CEP 6 (Abbott, USA) v CGB laboratoři a.s. do rutinního provozu.

**Results:** V krátkém časovém období 10/2008-04/2010 jsem vyšetřovali metodou FISH vzorky melanocytárních lézí, maligního melanomu a vzorky s neobvykle obtížnou diagnózou. Ve vyšetřovaných benigních melanocytárních lézích (névech) byl zjištěn normální nález, tedy námi neprokázána genetická abnormalita. Genetické abnormality byly nalezeny u všech vyšetřovaných typů maligního melanomu a dále u malého procenta vyšetřovaných vzorků s neobvykle obtížnou diagnózou.

**Conclusions:** Kombinovaná sonda Vysis LSI RREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CEP 6 (Abbott, USA) se jeví jako užitečný nástroj pro upřesnění biologické povahy a tím i diagnózy obtížně hodnotitelných nevocelulárních kožních lézí v rutinním provozu.

## Imunohistochemická analýza nádorov močového mechúra

<sup>1,2</sup>Július Rajčáni, <sup>2</sup>Karol Kajo, <sup>3</sup>Marian Adamkov, <sup>1</sup>Eva Morávková, <sup>1,2</sup>Marián Benčat  
<sup>1</sup>Alpha medical a.s., Martin, <sup>2</sup>BBBiocyt diagnostické centrum, s.r.o., Banská Bystrica a  
<sup>3</sup>Ústav histológie Jesseniovej LFUK, Martin

Vyšetrili sme 34 karcinómov močového mechúra a 7 prípadov chronickej cystitídy (celkom materiál od 41 pacientov). Parafínové rezy sme vyšetrili na nasledujúce antigény: 1. marker proliferácie Ki-67 exprimovaný v jadre, 2. regulačný bunkový proteín p16 /INK4, 3. jadrový proteín p63 (marker buniek derivovaných z urotelu), 4. cytokeratíny **7 (CK7) a 20 (CK20)** a vysokomolekulový cytokeratín (HMWCK). Invazívne rastúce málo diferencované karcinómy z prechodného epitelu (HG-invasive TCC) tvorili polovicu nádorov (17/34); druhú polovicu tvorili papilokarcinómy s vysokým potenciálom malignity (HG-noninvasive TCC, 11 prípadov) respektíve papilokarcinómy s nízkym potenciálom malignity (LG-noninvasive TCC, 6 prípadov). HMWCK antigén bol prítomný pri všetkých invazívnych nádoroch urotelu (HG-invasive TCC), antigén CK7 nebol prítomný pri dvoch nádoroch (15/17 pozitívnych, 88%), kým antigény CK20 a p63 boli zistené len pri 11 z nich (65%). Pri invazívnych nádoroch z urotelu, ktoré boli negatívne na antigén p63 (6/17), boli prítomné aspoň dva z troch vyšetrených cytokeratínov. Za invazívny rast sme považovali infiltráciu svaloviny močového mechúra, nie však mikroinváziu buniek endofyticky rastúceho nádoru do väziva pod bazálnou membránou. Na odlišenie stupňa malignity (HG alebo LG) neinvazívnych papilokarcinómov sa osvedčilo najmä farbenie na antigén Ki-67. Antigén Ki-67 bol pozitívny pri papilokarcinómoch klasifikovaných ako LG-noninvasive TCC v jadrách približne 10 -20% buniek v oblasti bazálnej vrstvy, teda v zóne vykazujúcej znaky klasickej dysplázie. Na rozdiel od dysplastických buniek čapíka maternice, v proliferujúcom uroteli nebol výsledok farbenia na antigén p16 spoľahlivým znakom dysplázie. Pri chronickej cystitíde s hyperpláziou alebo metapláziou urotelu bolo farbenie na antigén p63 dobrým indikátorom, upozorňujúcim na oblasť príslušných zmien urotelu. Vo dvoch prípadoch polypóznej cystitídy bol relatívne vysoký podiel buniek s jadrami pozitívnymi na antigén Ki-67 (fokálne až 10-20%) znakom počínajúceho papilokarcinómu najnižšieho stupňa malignity (LG-noninvasive TCC). Záverom treba zdôrazniť, že pri nádoroch z urotelu bývajú pozitívne najmä HMWCK a CK7 a v kombinácii s markerom p63 najmenej dva z uvedených 4 (p63, CK7, CK20 a HMWCK). Dobrým kritériom na posúdenie stupňa malígneho potenciálu je farbenie na jadrový antigén Ki-67, keďže podiel pozitívnych buniek stúpa od 10-20% pri nádoroch typu LG do podielu vyše 50% pri nádoroch HG.

## Sledování exprese proteinů Claudin-1 a Snail u epitelových nádorů kolorekta

Látalová P.<sup>1</sup>, Brychtová S.<sup>1</sup>, Bezděková M.<sup>1</sup>, Tichý M, jr.<sup>2</sup>, Hirňák J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoř molekulární patologie, Ústav patologie, LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>Klinika chorob kožních a pohlavních LF UP a FN Olomouc,

<sup>3</sup>Klinika plastické chirurgie LF UP a FN Olomouc

Prognóza kolorektálního karcinomu je doposud založena zejména na stádiu onemocnění. Nicméně je zaznamenáno, že u některých skupin pacientů ve stejném stádiu dochází k časné rekurenci a diseminaci nádoru, zatímco u jiných nikoliv. Předpokládá se, že tyto rozdíly jsou způsobeny odlišným maligním potenciálem nádorových buněk. Cílem naší práce bylo sledování exprese proteinů Claudin-1 a Snail u adenomů a karcinomů kolorekta nenádorovým epitelem střeva. Claudin-1 patří mezi „tight junction“ proteiny a předpokládá se, že by mohl patřit k hlavním proteinům, které se podílejí na vzniku kolorektálních karcinomů. Jeho hlavní funkcí je udržení polarity epitelových buněk, přičemž jeho aberantní exprese vede ke ztrátě mezibuněčných spojení a polarity buněk provázené přestavbou cytoskeletu. Snail je transkripční represor, jehož centrální rolí je podpora epitel-mezenchymální tranzice, přičemž se uvádí, že jeho zvýšená exprese souvisí s vyšší invazivitou a metastázováním nádorových buněk

Pomocí nepřímé imunohistochemie na parafinových, formalínem fixovaných tkáních s použitím barvicího automatu Ventana Benchmark, jsme vyšetřili celkem 78 případů zahrnujících 67 karcinomů a 11 adenomů. Jako primární protilátky byly použity myši monoklonální, anti Claudin-1, sc-81796, v ředění 1:500 (Santa Cruz Biotechnology, INC) a anti Snail, králičí polyklonální, v ředění 1:150 (Abcam).

Zaznamenali jsme významné zvýšení exprese Claudinu-1 u adenomů i adenokarcinomů ve srovnání s epitelem normální sliznice tlustého střeva, kde byla detekována pouze slabá, membránová exprese. Rozdíly v intenzitě a kvantitě exprese mezi adenomy a adenokarcinomy signifikantní nebyly, avšak prokázali jsme rozdíly v subcelulární lokalizaci. U adenomů s mírnou dysplazií zůstávala exprese membránová, zatímco u adenomů s vyšší dysplazií a u karcinomů docházelo k přesunu proteinu do cytoplazmy. Buňky stromatu Claudin-1 neexprimovaly. Protein Snail byl exprimován jak v buňkách normálního epitelu, tak u adenomů i karcinomů bez signifikantních rozdílů mezi jednotlivými skupinami. U karcinomů jsme však zjistili častější cytoplazmatickou lokalizaci. Dále jsme u skupiny karcinomů zjistili významně vyšší expresi proteinu ve stromálních elementech – fibroblastech a endoteliích.

Prokázali jsme, že k deregulaci Claudin-1 dochází již v časných fázích kancerizace kolorekta, kdy se tento protein podílí na nádorové transformaci epitelu střeva. Dále jsme prokázali, že u adenokarcinomů dochází ke zvýšené expresi proteinu Snail v nádorovém stromatu, což může významně přispívat k progresi onemocnění.

Práce byla podpořena granty GAČR P304/10/1070 a MSM 6198959216

## **Vybrané fenotypové a genetické markery rhabdomyosarkómov a ich prediktívny význam.**

Janegová A.<sup>1</sup>, Leitnerová M.<sup>2</sup>, Janega P.<sup>1,3</sup>, Feketeová L.<sup>1</sup>, Klincová M.<sup>1</sup>, Jendeková A.<sup>2</sup>, Sejnová D.<sup>5</sup>, Ilencíková D.<sup>2</sup>, Plank L.<sup>4</sup>, Babál P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta UK, Bratislava, <sup>2</sup>Oddelenie onkologickej genetiky, NOÚ, Bratislava, <sup>3</sup>Ústav normálnej a patologickej fyziológie, SAV, Bratislava, <sup>4</sup>Ústav patologickej anatómie, JLK a MFN, Martin, <sup>5</sup>Klinika detskej hematológie a onkológie LU a DFNSP, Bratislava

**Úvod:** Rhabdomyosarkómy (RMS) sú najčastejším zhubným nádorom mäkkých tkanív detského veku, u dospelých sú relatívne zriedkavé. Kým u detí a adolescentov sa vyskytuje najmä embryonálny a alveolárny RMS, v dospelom veku vzniká skôr pleomorfný RMS. Jednotlivé typy RMS sa líšia nielen svojou morfológiou, ale zdajú sa byť aj samostatnými biologickými jednotkami s rôznymi genetickými zmenami a odlišnou prognózou. U alveolárneho typu boli už v minulosti identifikované charakteristické translokácie, t(2;13) a zriedkavejšia t(1;13) so vznikom fúzneho génu PAX3-FKHR resp. PAX7-FKHR. Na rozdiel od alveolárneho RMS sa v embryonálnom podtype dodnes nepodarilo identifikovať špecifickú mutáciu. Pre správny manažment pacienta s RMS sú preto potrebné jednoznačné diagnostické markery, ktoré umožnia spoľahlivé stanovenie diagnózy, ako aj nové prognostické markery a terapeutické ciele, ktoré by zlepšili prežívanie pacientov. Cieľom predkladanej práce, bolo hodnotenie vybraných diagnostických a perspektívnych prognosticko-terapeutických markerov na biopsických vzorkách pacientov s embryonálnym a alveolárnym RMS a inými sarkómami.

**Metodika:** Základný súbor tvorili prípady embryonálneho (eRMS, 12 pacientov) a alveolárneho (aRMS, 3 pacienti) rhabdomyosarkómu a ne-RMS sarkómy, zahrňujúcich prípady malígneho fibrózneho histiocytómu, synoviálneho sarkómu, leiomyosarkómu, fibrosarkómu, neurofibrómu a Ewingov sarkóm (ne-RMS, 6 pacientov). Imunohistochemicky bola hodnotená expresia myogenínu (Myf-4), myoD1, VEGF, EGFR, COX-2, CEA, p-Akt (S473) a p-mTOR (S2448). Výsledky boli korelované s genetickým vyšetrením prítomnosti m-RNA pre myogenín, myoD1 a pre fúzne produkty PAX3/7-FKHR pomocou RT-PCR, spolu s detekciou aktivačnej mutácie K-RAS.

**Výsledky:** Myogenín a myoD1 vykazovali zhodnú jadrovú pozitívitu v 10/12 eRMS a v 3/3 aRMS, kým v ne-RMS nádorov mäkkých tkanív boli negatívne. Expresia proteínu hodnotená imunohistochemicky sa zhodovala s výsledkami RT-PCR pre myogenín a myoD1. Diagnóza aRMS bola potvrdená nálezom fúzie PAX3/7-FKHR (prítomná v 3/3 prípadov aRMS a v žiadnom prípade eRMS). EGFR vykazoval pozitívitu v 10/12 prípadov eRMS a v žiadnom prípade aRMS. VEGF bol exprimovaný rôzne intenzívne vo všetkých hodnotených vzorkách vo vysokom percente nádorových buniek, nepozorovali sme rozdiely medzi skupinami. COX-2 bol pozitívny v 8/12 eRMS, 2/3 aRMS a 3/5 ne-RMS nádorov mäkkých tkanív. Aktívne, fosforylované formy proteínov Akt a mTOR boli zistené u 8/12 eRMS a 1/3 aRMS. Akt a mTOR boli koexprimované vo všetkých týchto prípadoch s výnimkou jedného, ktorý bol Akt-/mTOR+.

**Záver:** Expresia myogenínu a myoD1 odlišujú RMS od iných ne-RMS sarkómov. Dôkaz fúzie PAX3/7-FKHR umožňuje oddeliť aRMS od eRMS, čo má dôležitý prognostický význam, keďže aRMS pacienti majú horšiu prognózu prežívania. Potenciálnym diskriminátorom medzi týmito dvoma podtypmi RMS sa zdá byť aj EGFR, ktorý preukázal expresiu v eRMS, ale nie v aRMS. Prognózu RMS pacientov predurčuje lokalizácia, veľkosť, klinické štádium a histologický typ nádoru. Prognostický významným môžu však byť aj ukazovatele biologického správania sa nádoru, ako markery angiogenézy, rastu a metastatického potenciálu (VEGF), proliferácie (EGFR) a antiapoptotickej aktivity (p-Akt, p-mTOR) a adhezivity (CEA). Popri štandardnej liečbe, by tieto markery predstavovali aj vhodné molekuly pre ciele terapiu u. Predovšetkým VEGF a EGFR sa zdajú byť perspektívne z hľadiska liečby RMS, čo naznačuje ich vysoká

expresia (VEGF +++ >50% buniek u 15/15 RMS, EGFR +++-+++ >50% buniek u 5/12 eRMS) a v prípade EGFR aj absencia aktivačnej mutácie K-RAS u EGFR pozitívnych pacientov. Zaujímavú terapeutickú možnosť predstavuje aj blokáda mTOR, ktorá sa zdá byť u eRMS aktivovaný predovšetkým tyrozínkinázou Akt (koexprimovaný s mTOR v 7/12 eRMS).

## KOŽNÉ CD30+ LYMFOPROLIFERATÍVNE OCHORENIA

Lukáš Plank, Peter Szépe, Tomáš Balhárek, J. Marcinek

Ústav patologickej anatómie a Konzultačné centrum bioptickej diagnostiky ochorení krvotvorby JLF UK a UNM Martin a Martinské bioptické centrum, s.r.o.

*Úvod:* Kožné CD30+ lymfoproliferatívne ochorenia (ďalej LPO) sú z hľadiska ich bioptickej diagnostiky charakterizované prítomnosťou CD30+ blastických buniek T-pôvodu a sú zväčša stotožňované s kateóriou „primárnych kožných CD30+ LPO“ podľa klasifikácie nádorov krvotvorby a lymfatického systému SZO (2008). Táto kategória zahŕňa jednak primárny kožný veľkobunkový anaplastický NHL (ďalej c-ALCL), ako aj 3 podtypy lymfomatoidnej papulózy kože (LyP, podtyp A, B, C). Nález CD30+ blastov v teréne kožnej lymfoproliferácie však nie je nijako výnimočný. *Materiál a metodika:* z archívu ÚPA a MBC sme vybrali sériu konzekutívnych kožných biopsií so záznamom záchytu CD30+ blastov v ich bioptickom obraze. Všetky prípady boli analyzované imunohistochemicky, pričom základný panel vyšetrení vždy zahŕňal dôkazy pan B- a pan T-znakov, c-Ig a antigénu CD30, doplnený podľa potreby individuálne. Výsledky boli korelované so známymi klinickými údajmi, vrátane údajov o priebehu ochorenia, pokiaľ boli tieto údaje k dispozícii. *Výsledky:* Nález CD30+ blastov sa vyskytol v rôznych zostavách histopatologického obrazu kožných LPO s rôznym fenotypovým profilom. V zásade šlo o dve skupiny prípadov: 1) prípady s obrazom lymfoproliferácie, ktorá spĺňala kritériá benígnej kutánnej lymfoidnej hyperplázie rôzneho stupňa, sčasti asociovanej s inými klinicky dlhodobo známymi dermatologickými ochoreniami, sčasti bez objasnenia etiológie - tieto prípady charakterizoval zmiešaný profil B- a T-bunkovej populácie; aj CD30+ blasty predstavovali zmes CD30+ blastov T-, resp. B-pôvodu. Identifikácia procesu bola bezproblémová v prípadoch s vyznačenou aktiváciou B-zložky a zložitejšia v prípade regresívnej transformácie folikulovej hyperplázie až jej zániku. 2) prípady s obrazom homogénnej T-bunkovej lymfoproliferácie, s bunkovými atypiami dominujúcich malých až stredne veľkých T-lymfocytov a s disperznými CD30+ blastami T-pôvodu. Istým rozdiel medzi obidvomi skupinami ochorení poskytovala aj topografická distribúcia CD30+ blastov. *Diskusia a záver:* Antigen CD30 je antigénom bunkovej aktivácie a proliferácie elementov lymfocytového radu a nie „špecifickým“ znakom vybraných typov ML. Preto aj nález CD30+ blastov nie je unikátnym a už vôbec nie špecifickým nálezom primárnych kožných CD30+ LPO. Rovnako môže byť aj sekundárnou súčasťou širokého spektra reaktívnych lymfoproliferácií. Problémy diferenciálnej diagnostiky neoplastických versus reaktívnych kožných CD30+ LPO spôsobuje zväčša len podtyp A LyP, pretože morfológia podtypov B a C, podobne ako morfológia c-ALCL je dostatočná pre orientáciu diagnostického procesu smerom k T-bunkovým nádorovým LPO. Komplexná analýza bioptického materiálu spojená so získaním relevantných klinických údajov je nevyhnutná pre správne diagnostické závery.

Podporené projektom OPVaV-2008/2.1/01-SORO - Centrum excelentnosti CEPV I. (IMTS kód 26220120016) a CEPV II. (IMTS kód 26220120036) na Jesseniovej lekárskej fakulte Univerzity Komenského v Martine, ktorý je spolufinancovaný z prostriedkov EÚ.



Postery

## Glitazóny v chemoprevenčii experimentálnej mammárnej karcinogenézy

<sup>1,2</sup>Kajo K, <sup>3</sup>Bojková B, <sup>4</sup>Kubatka P, <sup>3</sup>Garajová M, <sup>3</sup>Orendáš P, <sup>3</sup>Kassayová M, <sup>3</sup>Kisková T,  
<sup>3</sup>Ahresová E, <sup>3</sup>Ahlers I.

<sup>1</sup> BB BIOCYT, diagnostické centrum s.r.o., Banská Bystrica; <sup>2</sup>Ústav patologickej anatómie JLF UK a UNM, Martin; <sup>3</sup> Ústav biologických a ekologických vied, Prírodovedecká fakulta UPJŠ, Košice; <sup>4</sup> Ústav lekárskej biológie, JLF UK v Martine

**Úvod:** glitazóny (thiazolidinedióny) sú syntetické liečivá, ktoré sa využívajú v terapii 2.typu diabetes mellitus. Ukázalo sa, že glitazóny môžu modulovať malígnu transformáciu cestou indukcie apoptózy a zastavenia bunkového cyklu, potlačením angiogenézy a tiež protizápalovým pôsobením.

**Cieľ:** poukázať na chemopreventívny účinok glitazónov v modeli experimentálnej mammárnej karcinogenézy.

**Materiál a metodiky:** v štúdiu bol použitý pioglitazón v koncentráciách 10 ppm (1mg/kg/deň) – PIO10 a 100 ppm (10mg/kg/deň) – PIO100 u samíc potkanov, u ktorých bola karcinogenéza indukovaná N-metyl-N-nitrozourea (NMU). Chemoprevenca bola začatá 12 dní pred aplikáciou NMU a experiment bol ukončený 17.týždeň od podania karcinogénu. Hodnotené boli základné parametre experimentálnej karcinogenézy a histologický typ nádorov (sec. Russo et Russo, 2000) v porovnaní s kontrolou.

**Výsledky:** v skupine PIO100 bola signifikantne predĺžená perióda latencie o 32% ( $p < 0,001$ ) a frekvencia nádorov v skupine o 63% ( $p < 0,01$ ) a tiež bola znížená incidencia nádorov o 32% od 11. týždňa experimentu v porovnaní s kontrolnou skupinou.

**Záver:** ide o prvú prácu poukazujúcu na chemopreventívny účinok perorálneho antidiabetika pioglitazónu v mammárnej karcinogenéze u potkanov, ktorej výsledky nasvedčujú, že pioglitazón by mal byť ďalej študovaný z hľadiska jeho onkopreventívneho efektu.

*Práca bola podporená projektom „Centrum excelentnosti pre perinatologický výskum“, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ (ITMS 26220120016) a grantom VEGA 1/4321/07.*

## Chemoprevencia experimentálnej mammárnej karcinogenézy pomocou statínov

<sup>1,2</sup>Kajo K, <sup>3</sup>Kubatka P, <sup>3</sup>Žihlavníková K, <sup>4</sup>Solár P, <sup>3</sup>Péč M, <sup>3</sup>Valentová V, <sup>4</sup>Bojková B,  
<sup>4</sup>Kassayová M, <sup>4</sup>Ahlers I.

<sup>1</sup> BB BIOCYT, diagnostické centrum s.r.o. Banská Bystrica; <sup>2</sup>Ústav patologickej anatómie JLF UK a UNM, Martin; <sup>3</sup> Ústav lekárskej biológie, JLF UK, Martin; <sup>4</sup> Ústav biologických a ekologických vied, Prírodovedecká fakulta UPJŠ, Košice

**Úvod:** statíny (inhibítory 3-hydroxy 3-metylglutaryl koenzým A reductázy) sú terapeutiká, ktoré sa využívajú pri liečbe hypercholesterolémie. Majú antiaterosklerotické, antitrombotické a protizápalové účinky, ktoré vyplývajú z ich antiproliferačných a antiangiogenetických vlastností. V súčasnosti prebieha intenzívne štúdium ich možného uplatnenia v prevencii nádorových ochorení.

**Ciel':** poukázať na chemopreventívny účinok statínov v modeli experimentálnej mammárnej karcinogenézy.

**Materiál a metodiky:** v štúdiu bol použitý atorvastatín u samíc potkanov, u ktorých bola karcinogenéza indukovaná N-metyl-N-nitrozoureou. Chemoprevencia bola začatá 8 dní pred aplikáciou karcinogénu v 2 dávkach: a./ ATOR10 - 10mg/kg; b./ ATOR100 – 100mg/kg a bola podávaná 15 týždňov. Hodnotené boli základné parametre experimentálnej karcinogenézy, histologický typ nádorov (sec. Russo et Russo, 2000), expresia mRNA Bcl2 a Bax a sérové hladiny triacylglycerolov, celkového cholesterolu a LDL cholesterolu v porovnaní s kontrolou.

**Výsledky:** v skupine ATOR100 bola znížená frekvencia nádorov o 80,5% ( $p < 0,001$ ) a ich incidencia o 49,5% ( $p < 0,05$ ) a nesignifikantne bola predĺžená doba latencie o 14 dní v porovnaní s kontrolnou skupinou. Taktiež bola znížená expresia mRNA génu Bcl2 pri nezmenenej expresii mRNA proapoptotického génu Bax. Sérové hladiny sledovaných lipidov neboli zmenené. Atorvastatín v nižších dávkach nebol v štúdiu efektívny.

**Záver:** ide o prvú prácu zaoberajúcu sa tumorsupresívnym účinkom atorvastatínu v experimentálnej karcinogenéze u potkanov, ktorej výsledky svedčia aj pre možné využitie v prevencii onkogenézy u vysoko rizikových žien s hypercholesterolémiou, avšak potrebné sú ďalšie štúdie.

*Práca bola podporená projektom „Centrum excelentnosti pre perinatologický výskum“, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ (ITMS 26220120016) a grantom VEGA1/0029/08.*

# MAMMÁRNE ANGIOSARKÓMY PO KONZERVATÍVNYCH CHIRURGICKÝCH ZÁKROKOCH A NÁSLEDNEJ RÁDIOTERAPII

<sup>1,2</sup>Kajo K, <sup>2</sup>Machálek K, <sup>3</sup>Lúčan J, <sup>4</sup>Žúbor P.

<sup>1</sup>Ústav patologickej anatómie JLF UK a UNM, Martin; <sup>2</sup>BB BIOCYT diagnostické centrum, s.r.o., Banská Bystrica; <sup>3</sup>1.Chirurgická klinika JLF UK a UNM, Martin; <sup>4</sup>Gynekologicko-pôrodná klinika, JLF UK a UNM, Martin

## Abstrakt

**Úvod:** Sekundárne angiosarkómy (AS) prsníka sú zriedkavé nádory, ktoré vznikajú buď na podklade lymfedému po mastektómii, ide o tzv. AS pri Stewart-Trevesovom syndróme (ASSTS) alebo ako kožné AS po konzervatívnom chirurgickom zákroku s následnou rádioterapiou pre karcinóm prsníka (KPRAS).

**Cieľ:** Analýza prípadov KPRAS z registra ÚPA JLF UK v Martine.

**Materiál a metodiky:** Išlo o tri prípady 55-, 73- a 79- ročných žien s KPRAS vo veľkosti od 17mm až po difúzne postihnutie kože prsníka. Vo všetkých prípadoch nasledovala mastektómia. Pacientky v minulosti prekonali karcinómy prsníka (pred 8-, 6-, resp. 4,5 rokmi), ktoré boli riešené konzervatívnou chirurgickou liečbou a následnou rádioterapiou.

**Diskusia:** KPRAS má charakteristické základné klinické a morfológické črty, pomocou ktorých sa odlišuje od ostatných foriem mamárnych AS. Sú to najmä relatívne krátka latencia od radiačnej liečby, výskyt v staršom veku, chýbanie lymfedému a zriedkavá propagácia do tkaniva prsníka. Prognosticky ide o závažné ochorenie, pri ktorého predikcii prognózy slúži histologický grading, ale budú potrebné ďalšie ukazovatele na exaktnejšie vyjadrenie priebehu ochorenia.

*Práca bola podporená projektom „Centrum excelentnosti pre perinatologický výskum“, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov ES (ITMS 26220120016).*

# MEXICKÁ CHRÍPKA Z POHLADU PATOLÓGA

L. Rudinská<sup>1,2</sup>, P. Handlos<sup>1,2</sup>, J. Dvořáčková<sup>1</sup>, P. Buzrla<sup>1</sup>, P. Ilnát<sup>3</sup>, J. Horáček<sup>1</sup>, I. Dvořáček<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ústav Patologie, Fakultní nemocnice Ostrava, ČR

<sup>2</sup>Ústav soudního lékařství, Fakultní nemocnice Ostrava, ČR

<sup>3</sup>Chirurgická klinika, Fakultní nemocnice Ostrava, ČR

## ÚVOD

Problematika infekcie vírusom H1N1, známeho ako mexická chrípka, bola veľmi silne medializovaná. Prvé ľudské ochorenie vyvolané novým typom vírusu mexickej chrípky H1N1 bolo zaznamenané v USA a Mexiku koncom marca minulého roku. Vírus sa objavil vo viac ako 20 krajinách, obvykle s ľahkým priebehom a úplným uzdravením. Podľa Európskeho centra pre prevenciu a kontrolu ochorení (ECDC) je úmrtnosť na chrípkový vírus H1N1 nižšia (0.2-0.3 na 1000 nakazených) ako na sezónnu chrípku.

## METODIKA

V našej štúdií sme sa zamerali na zhodnotenie patologického (makroskopického a mikroskopického) nálezu u osôb zomrelých v dôsledku infekcie vírusom mexickej chrípky a na vyhodnotenie charakteristických rysov, ktoré by mali klinického patológa upozorniť na možnosť ochorenia týmto vírusom.

## VÝSLEDKY

V období od 1.11.2009 do 28.2.2010 bolo v Moravsko-sliezskom kraji na vírus H1N1 vyšetrených cca 1200 osôb, z ktorých bolo 302 osôb pozitívnych, 13 osôb v kraji na chrípku zomrelo. Celkový počet nakazených či počet úmrtí na vírus mexickej chrípky nie je možné objektívne zistiť. V sledovanom období bolo vo FN Ostrava vykonaných 450 pitiev, z ktorých 4 osoby zomreli v dôsledku nákazy vírusom H1N1.

Pri pitve pacientov zomrelých v dôsledku infekcie vírusom mexickej chrípky boli makroskopicky zistené známky ťažkej infekcie horných a dolných ciest dýchacích. Mikroskopicky bol príznačný nález ťažkej nekrotizujúcej tracheitídy, nekrotizujúcej bronchiolitídy a ťažkého difúzneho alveolárneho poškodenia pľúc. Inklúzie vírusu v trachei či pľúcach neboli mikroskopicky zastihnuté. Virologická kultivácia bola u všetkých pacientov pozitívna iba za života pacientov.

## ZÁVER

Výsledky našej štúdie ukazujú, že makroskopický ani mikroskopický obraz infekcie vírusom mexickej chrípky nie je špecifický. Na diagnózu mexickej chrípky by mal patológ myslieť pri náleze ťažkej vírusovej pneumónie ako príčiny smrti. Jednoznačný dôkaz je možný iba serologickým stanovením vírusu v sekčnom materiáli, čo je vzhľadom k veľmi nízkej odolnosti vírusu chrípky takmer nemožné.

## The Role of NFκB Signaling Pathway in Lymphomagenesis

Flodr, P. <sup>1</sup>, Kubová, Z. <sup>2</sup>, Papajík, T. <sup>2</sup>, Tichý, M. <sup>1</sup>, Tichý, T. <sup>1</sup>, Geierová, M. <sup>1</sup>, Krejčí, V. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and Faculty Hospital Olomouc, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Hemato-oncology, Faculty Hospital Olomouc, Czech Republic

### Introduction:

Diffuse Large B-cell Lymphoma constitutes app. 30-40% of non-Hodgkin lymphomas, Anon (1993), Armitage et al. (1998). Median age is in the 7<sup>th</sup> decade Anon (1993), Armitage et al. (1998).

The potential prognostic and predictive factors in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) can be evaluated on clinical and histomorphologic grounds with a contribution of an immunoprofile and molecular profile (WHO 2001, 2008).

Few studies used an immunohistochemical expression detection for a stratification of DLBCL, Barranas et al.(2002), Colomo et al. (2003), Linderoth et al. (2003), McClintock et al. (2003). Two major patterns of gene expression by gene array technology have been proposed, Alizadeh et al. (2000), Rosenwald et al. (2002) dividing into prognostically significant subgroups in a Germinal centre B-cell-like (GCB) and an Activated B-cell-like (ABC) DLBCL. Expected 5-year over-all survival (OS) in GCB and ABC DLBCL is app.70%, 39% resp.(WHO 2001).

First publication describing NFκB pathway is mentioned in 1986 (Sen et al.) and comprises family of transcription factors (RelA, RelB, c-Rel, p105, p100, p50, p52) with an important role in a cell proliferation, antiapoptotic function and differentiation. NFκB signaling pathway is activated by numerous stimuli, including bacteria and viruses and is referred to as a central mediator of an immune response and controls the expression of many inflammatory cytokines, chemokines, immune receptors and cell surface adhesion molecules. NFκB signaling pathway regulates survival of normal and malignant B-cells by controlling the expression of cell death regulatory genes (Karin et al. 2002, Karin et al. 2002). Constitutive activation of NFκB signaling pathway may contribute to the lymphomagenesis of DLBCL.

### Material and Methods:

The sorting in GC and post-GC DLBCL group from formalin-fixed, paraffin embedded tissue blocks with an application of indirect immunohistochemistry was carried out according the immunoprofile as detected in GC and non-GC B-cells. So-called "Hans classifier" encompasses surface antigen CD10, proposed protooncogenic factor Bcl6 and transcription factor MUM1/IRF4 both show nuclear localised expression. The GC group was signed if detected positive expression of CD10 and BCL6 and negative expression of MUM1/IRF4 and non-GC group sorting in a vice versa manner.

During the activation of NFκB pathway free NFκB monomers translocate to the nucleus and nuclear positivity was observed in particular DLBCL groups.

### Results:

In our pilot file of DLBCL (n=32) we evaluated expression of NFκB (p50, p52, p65) and in GC (n=14), non-GC (n=6) types and "grey-zone" (n=12) with detected nuclear localization of NFκB expression (n=8) without clear-cut linkage to the three mentioned groups of DLBCL.

### Conclusions:

Currently extended file (n=71) is being sorted according to our design both in conventional tissue blocks and tissue microarray (TMA) and we expect at least analogous heterogeneity of evaluated cases. Described assay is a part of "translation research" in DLBCL which can play an important role in "tailored therapy" in particular cases of the DLBCL disease. Acknowledgements MSM 61 98 95 92 05.

## Účinky inhibítorov aromatáz v experimentálnej mammárnej karcinogéze

<sup>1,2</sup>Kajo K, <sup>3</sup>Kubatka P, <sup>4</sup>Sadloňová V, <sup>1,5</sup>Macháleková K, <sup>2</sup>Adamicová K, <sup>4</sup>Nosáľová G.

<sup>1</sup> BB BIOCYT, diagnostické centrum s.r.o. Banská Bystrica; <sup>2</sup> Ústav patologickej anatómie, JLF UK a UNM, Martin; <sup>3</sup> Ústav lekárskej biológie, JLF UK, Martin; <sup>4</sup> Ústav farmakológie, JLF UK, Martin; <sup>5</sup> Oddelenie patológie OÚSA, Bratislava

### Abstrakt

**Úvod:** Inhibítory aromatáz (IA) potláčajú aktivitu enzýmu aromatázy, ktorá je potrebná pri konverzii androgénov do estrogénov. IA sú využívané v liečbe a prevencii karcinómov prsníka, ktoré sú hormonálne dependentné.

**Ciele:** Hodnotiť účinky niektorých IA (letrozolu a anastrozolu) v experimentálnej mammárnej karcinogéze u potkanov, vyvolanej N-metyl-N-nitrozoureu.

**Materiál a metodiky:** Dizajn štúdie pozostával z dvoch experimentov: a./ účinky letrozolu v dvoch ramenách (dávky 1mg/1kg – LETRO 1 a 10mg/1g – LETRO 10); b./ vedľajšie účinky anastrozolu v dvoch ramenách (0,05mg/1kg potravy - ANA 0,05 a 0,5mg/1kg – ANA 0,5). Sledovanými ukazovateľmi boli všeobecné parametre karcinogenézy (incidencia nádorov, frekvencia, doba latencie), plazmatické ukazovatele lipidového metabolizmu a sérové hladiny pohlavných hormónov, hmotnosť, priberanie tukového tkaniva a histologické typy nádorov (sec. Russo et Russo, 2000).

**Výsledky:** Letrozol už v nižšej dávke znížil incidenciu nádorov o 93% ( $p < 0,00002$ ) voči kontrole a pri vyššej dávke došlo k totálnemu potlačeniu karcinogenézy. Zistená bola zvýšená hladina plazmatického triacylglycerolu ( $p < 0,0001$ ) a narastanie hmotnosti spolu s priberaním tukového tkaniva v skupinách LETRO 1 a LETRO 10 voči kontrolnej skupine ( $p < 0,0001$ ). Bola dokázaná atrofizácia endometria a vaginálneho epitelu v skupinách liečených potkanov. Pri anastrozole boli zistené štatisticky významné zhrubnutie kompaktnéj kosti ( $p < 0,001$ ) a steny myometria pri ANA 0,5 ( $p < 0,05$ ) a tiež zvýšenie hmotnosti ( $p < 0,01$ ). Nezistil sa histologický efekt na endometriu a epiteli vagíny. Taktiež plazmatické parametre lipidového metabolizmu a sérové hladiny pohlavných hormónov neboli významne zmenené.

Z histologických typov nádorov dominovali kribriiformné karcinómy v oboch experimentoch.

**Záver:** Experimenty potvrdili, že IA majú vysoký tumor-supresívny efekt a relatívne málo vedľajších účinkov.

*Práca bola podporená projektom „Centrum excelentnosti pre perinatologický výskum“, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ (ITMS 26220120016) a grantmi UK 249/2006 a 67/2007.*

## **Neobvykle metastazující medulární karcinom štítné žlázy**

MUDr. Marek Grega, prof. MUDr. Roman Kodet, CSc., MUDr. Daniela Kodetová

Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol

V bioptické patologii se často setkáváme s různými kuriozitami, nepředpokládaným chováním nemocí a také velmi často s nedostatky ve sdělnosti zásadních klinických informací. V kazuistickém sdělení bychom rádi dokumentovali neobvyklý případ metastazujícího medulárního karcinomu štítné žlázy.

Od 84-leté pacientky jsme obdrželi k bioptickému vyšetření 4 válečky tkáně velikosti do 10 mm. Jednalo se o odběr z ložiska v horním vnitřním kvadrantu pravého prsu (průměr do 17 mm). Na žádance byl dále popisovaný klinikem vícečetný ložiskový proces v játrech.

V základním histologickém vyšetření byl v tukově vazivové tkáni nalezen solidně trabekulárně uspořádaný nádor z větších polygonálních buněk, až hepatoidního vzhledu, s eosinofilní cytoplazmou, s jadernou pleomorfií a s výraznou mitotickou aktivitou. Ve zcela ojedinělých buňkách bylo nevýrazně pozitivní barvení na hlen. V celém rozsahu vyšetření nebyly struktury mléčné žlázy zastiženy.

Vzhledem k popsané morfologii jsme zadali první panel imunohistochemického vyšetření. Bylo potvrzeno, že se jedná o maligní epitelový nádor, z morfologického pohledu byl prakticky vyloučen primární původ nádoru z mléčné žlázy, z jater a z gastrointestinálního traktu.

V dalším kole vyšetřování jsme v nádoru prokázali neuroendokrinní diferenciaci, expresi TTF-1 a kalcitoninu, a vysokou cytoplazmatickou pozitivitu antimitochondriálního antigenu.

V této situaci jsme iniciovali mezioborovou diskusi nad výsledky pacientky. Dle sdělení kliniků a radiodiagnostických vyšetření jsme dostali „upřesňující“ informace. Ložisko nebylo v mléčné žláze, ale v podkoží hrudní stěny, v játrech byl patrný masivní rozpadový ložiskový proces (do 100 mm v průměru) a bylo identifikováno nejasné patologické ložisko v parenchymu pravého laloku štítné žlázy. Zdravotní stav pacientky se v průběhu bioptického vyšetřování výrazně horšil.

Na základě dodatečných informací a vzhledem k imunoprofilu jsme tedy nález interpretovali jako metastázu medulárního karcinomu štítné žlázy, onkocytární variantu. Doporučili jsme také další vyšetření (hlavně jaterních ložisek) k vyloučení nádorové duplicity.

Měsíc po prvotním bioptickém odběru pacientka umírá za příznaků metabolického rozvratu a kachexie. Při pitvě jsme prokázali generalizaci nádoru stejného vzhledu jako v bioptickém vyšetření. Oba laloky štítné žlázy byly prostoupené bělavou nádorovou tkání. Metastatická ložiska byla nalezena v lymfatických uzlinách mediastina, v játrech, v plicích, v podkoží hrudníku a ve skeletu. Infiltraci mléčné žlázy jsme neprokázali. O nádorovou duplicitu se nejednalo.

Jedná se o případ metastazování nádoru štítné žlázy do poměrně neobvyklé lokalizace. Na popsáném případě je také patrné, jak důležitá je korelace patologického nálezu s klinickým obrazem a s nálezem zobrazovacích metod.