

1/48/2001

3. Részjelentés: 2003. November 30.-2004. december 31.

RP.3. Molekuláris patológiai vizsgálatok fejlesztése.

Dr. Szentirmay Zoltán
Országos Onkológiai Intézet

RP3. Molekuláris pathológiai diagnosztika fejlesztése a különböző fekvenciájú daganatos megbetegedések esetében

Témavezető: dr. Szentirmay Zoltán, Országos Onkológiai Intézet

A. Morfológiai jellegzetességek és a molekuláris biológiai markerek összefüggése a lymphomák kialakulása során.

B. A HPV daganatkeltő hatásának vizsgálata.

C.. Lágyrész daganatok molekuláris pathológiai diagnosztikája, hisztogenezise és prognosztikája.

D./ Tüdőrákok molekuláris pathológiája

D./ Sentinel nyirokcsomók szerepe a női genitáliák tumorainak stádium-meghatározásában

A. Morfológiai jellegzetességek és a molekuláris biológiai markerek összefüggése a lymphomák kialakulása során.

Minimális residuális betegség és a relapsus molekuláris patológiai előrejelzése follicularis lymphomákban

A follicularis lymphomák 80%-ában a daganatos klón t(14;18) transzlokációt hordoz, mikor is a 18-as kromoszómán lévő bcl-2 proto-onkogén áthelyeződik a 14-es kromoszómán lévő immunglobulin nehéz lánc (IgH) régiójába, kialakítva egy hibrid bcl-2/IgH gént. Valós idejű PCR-t és olvadáspont analízist használva az előző évben kimutattuk, hogy a transzlokáció helye az egyes tumorokban finom különbségeket mutat, ezért a reakció alkalmas a daganatos klón egyedi azonosítására és ezen keresztül a minimális reziduális betegség illetve az esetleges relapsus, továbbá a terápiás szenzitivitás meghatározására. A reakció olyan érzékeny, hogy a mintában lévő 3 daganatsejt már felismerhető. Ebben az évben az eljárás klinikai alkalmazhatóságát vizsgáltuk.

Vizsgálati anyag és módszerek

Betegek mintái:

Összesen 44 tüsző eredetű illetve egyéb Non-Hodgkin lymphomás nyirokcsomót, e mellett kezelt follicularis lymphomás betegekből származó 135 vérmintát és 4 csontvelő aspirátumot dolgoztunk fel.

Módszerek

DNS izolálás

Lymphomás betegek fixálatlan vagy paraffinba ágyazott nyirokcsomóiból, illetve vérmintáiból DNS-t izoláltunk „High pure PCR template Preparation Kit” (Roche) segítségével. A DNS minta koncentrációját és tisztaságát spektrofotométerrel ellenőriztük.

Valós idejű kvantitatív PCR

A PCR reakcióhoz az alábbi saját tervezésű primereket és próbákat használtuk:

IGJH2: ACC TGA GGA GAC GGT GAC

MBR2L: TTT GAC CTT TAG AGA GTxT GC (x=LC705 fluorescens festék)

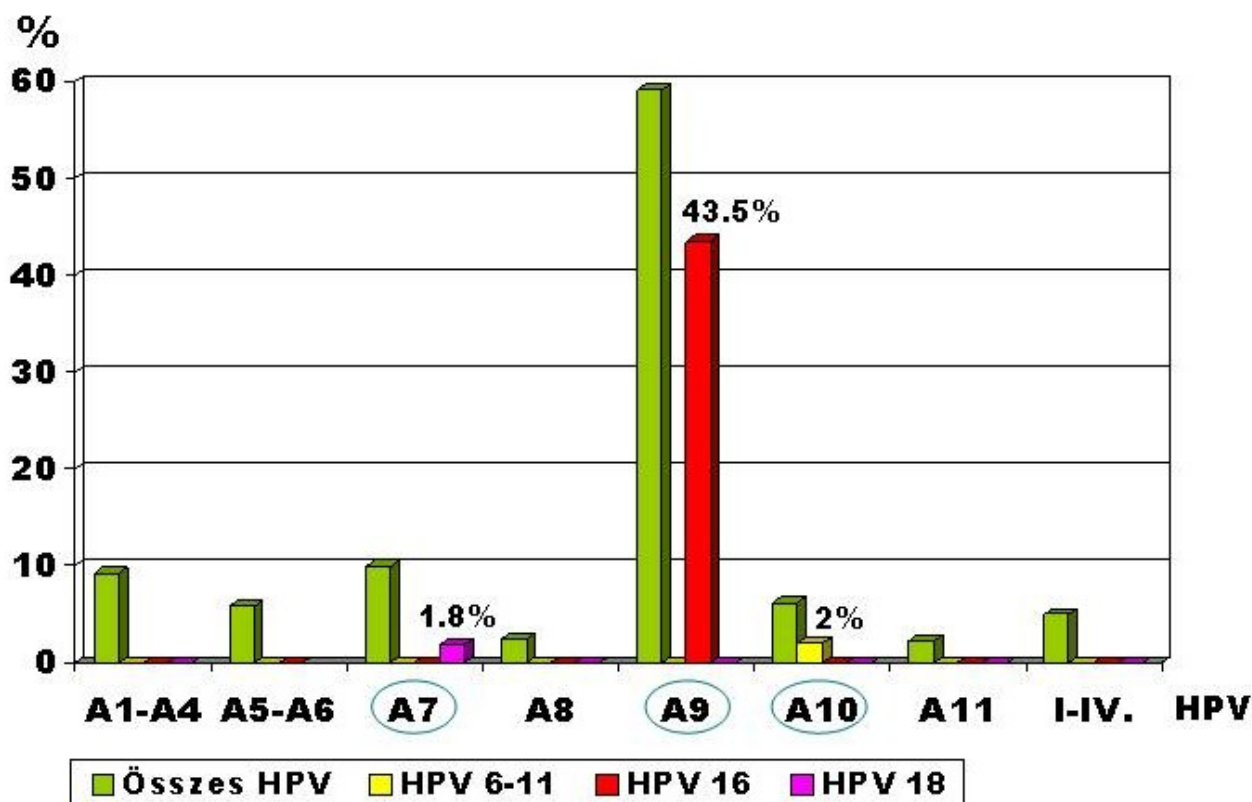
MRP: TGT GTT GAA ACA GGC CAC GTA AF (F= fluorescein)

Egyenként 10 µl reakció elegyet használtunk, ami LightCycler Fast Start DNA Master Mix-et tartalmazott. Az DNS amplifikáció LightCycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) készüléssel történt és 45 ciklusból állt. A fluorescens jelet az F3-as csatornán, 60°C-on detektáltuk.

Eredmények és következtetések

Ugyanannál a betegnél a nyirokcsomó tumorban észlelet és a periférián keringő daganatsejtek olvadáspont értékét mindig azonosnak találtuk, vagyis egy lymphomában többféle bcl-2 pozitív daganatsejt csoport nem, hanem csak azonos daganatos klónhoz tartozó sejtek fordultak elő.

A vizsgált 135 vérmintából 6 esetben (4.4%) tudtunk daganatsejteket kimutatni, ami klinikai tüneteket még nem okozó molekuláris relapsus korai jelének felelt meg. Az átlagos relapsus idő 14 hónap volt. További 4 csontvelő mintából 1 esetben minimális reziduális betegséget mutattunk ki,



2. ábra: HPV típusok magyarországi előfordulása méhnyak cytologiai mintákban, filogenetikai hasonlóság alapján csoportosítva. 450 beteg, 497 vírus. A HPV 6-11, HPV 16 és HPV 18 típusok azért vannak külön kiemelve, mert a bevezetendő preventív védőoltás ezek ellen a vírusok ellenkészült.

Adataink azt mutatják, hogy bizonyos hasonló szekvenciájú vírusok egyes kliniko-patológiai elváltozásokkal (LSIL vagy HSIL) korrelálnak.

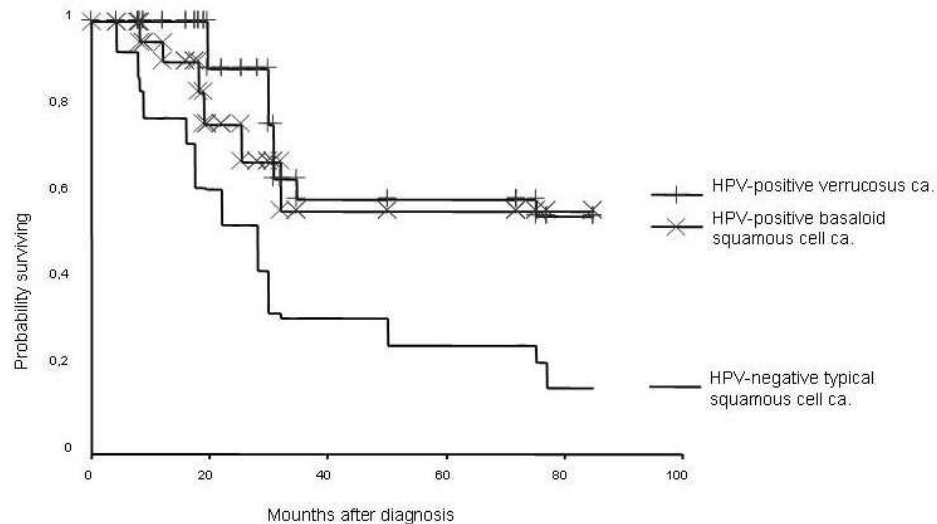
Érdekes megjegyezni, hogy a HPV-pozitív nők férfi partnereinél a tünetmentes glans penis hámjában 52.4%-ban volt HPV fertőzés kimutatható olyan típus-megoszlásban, mint amit a méhnyak hámjában is megfigyeltünk.

Szájüregi, gége és nyelőcső papillomák valamint a fej-nyaki laphámrák biológiai viselkedése

Korábbi vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a HPV eredetű szájüreg, gége vagy nyelőcső laphám papillomáiban a vírus rendszerint episomális formában van jelen, ezért hosszabb fennállás után az elváltozás spontán vírusmentessé válhatnak és növekedése leáll. Különösen fiatal felnőtteknél a gégében fordul elő recidiváló papillomatosis, ami rendszerint carcinomába megy át függetlenül attól, hogy a fertőzést alacsony vagy magas rizikójú HPV okozta. Ilyen esetekben a HPV-DNS integrálódott a fertőzött sejt genomjába. Sokváltozós statisztikai analízis segítségével próbáltuk megbecsülni a recidívák várható idejét. Azt találtuk, hogy a recidíva idő minden vizsgált változó közül egyedül az életkorral arányos. A regressziós koefficiens 1/25, ami azt jelenti, hogy egy 25 éves betegnél a kiújulás várható ideje 1 év, 50 éves betegnél 2 év.

Az összes laphámrák 80%-ban a férfiakban, 20%-ban a nőkben alakult ki. A férfiakban az összes tumor 71%-a HPV negatív elszarusodó vagy el nem szarusodó laphámráknak bizonyult. Nőkben a HPV pozitív tumorok szignifikánsan gyakoribbak mint férfiakban (P=0.0346), ezek inkább verrucosus vagy basalooid laphámrák, de gyakoribb a laphám papilloma is.

Említettük, hogy a típusos laphámrákok döntő többsége HPV negatív, a basaloid laphámrákok 80 %-a HPV pozitív és bennük leggyakrabban HPV 16 mutatható ki. A verrucosus carcinomák 100%-ban HPV pozitívak és bennük különféle HPV-féleségek, de többször HPV 70, 72 vagy 73 fordult elő. A HPV negatív és pozitív fej-nyaki laphámrákok elkülönítése prognosztikai jelentőségű. A HPV pozitív verrucosus és basaloid laphámrákok kedvezőbb túlélési arányt mutatnak, mint a HPV negatív típusos laphám carcinomák (3. ábra).



3. ábra: Kaplan-Meier túlélési modell HPV pozitív és negatív fej-nyaki laphámrákokra.

C.. Lágyszövet daganatok molekuláris pathológiai diagnosztikája, hisztogenezise és prognosztikája.

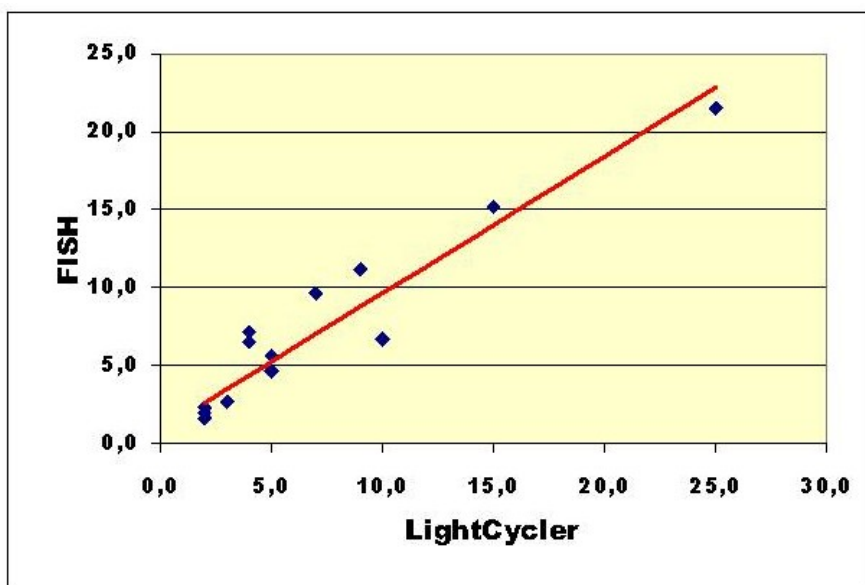
1) Neuroblastomák prognosztikája

Összesen 23 neuroblastoma LigCyclerrel és dual kolor FISH technikával meghatározott N-myc kópiaszámát, valamint sejtenkénti össz-DNS tartalmát hasonlítottuk össze a prognózis meghatározásának céljából.

A friss tumorszövet mintából lenyomati kenetet készítettünk és a sejtmagok DNS tartalmát Feulgen reakcióval tüntettük fel. Dual-color FISH vizsgálatot 23 tumor lenyomati kenetén végeztünk N-myc kópiaszám meghatározás céljából. (Ugyanezekben a tumorokban az N-myc kópiaszámot kvantitatív valós idejű PCR-rel is meghatároztuk.) A kvantitatív kiértékelés digitális képanalízissel történt.

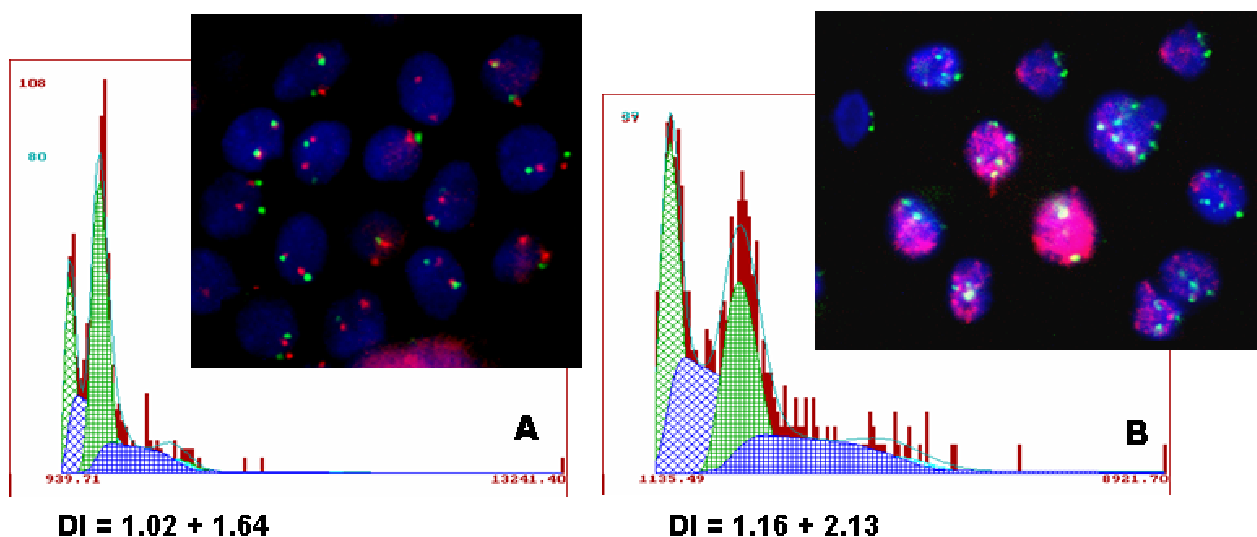
Eredmények és következtetések

Valós idejű kvantitatív PCR eljárással 23 neuroblastoma kevesebb mint négyszeres, 10 neuroblastoma több mint négyeszeres N-myc amplifikációt mutat (30%). Ezen belül 4.8%-ban a kópiaszám több mint 300 volt. Minden egyes tumornál az N-myc kópiaszám meghatározása mellett megadtuk a tumor gradinget és DNS cytometria segítségével a DNS indexel kifejezett ploidiát és az S-fázis arányt. A FISH vizsgálatok eredményét összevetettük a DNS-cytometriás és kvantitatív PCR adatokkal. Szoros lineáris korrelációt találtunk a kvantitatív PCR és kvantitatív FISH eredmények között, ha az adott tumor 25 vagy kevesebb N-myc kópiaszámot tartalmazott (4. ábra). Ha az N-myc amplifikáció mértéke meghaladta a sejtenkénti 25 kópiát, kvantitatív FISH vizsgálattal a valós kópiaszámot már nem lehetett meghatározni.



4. ábra: Kvantitatív FISH és kvantitatív valósídejű PCR (LightCycler) vizsgálattal ugyanabban a tumorban meghatározott N-myc kópiaszám összehasonlítása. Az ábrán látható minden egyes sötét kis kocka egy-egy neuroblastoma mintának felel meg.

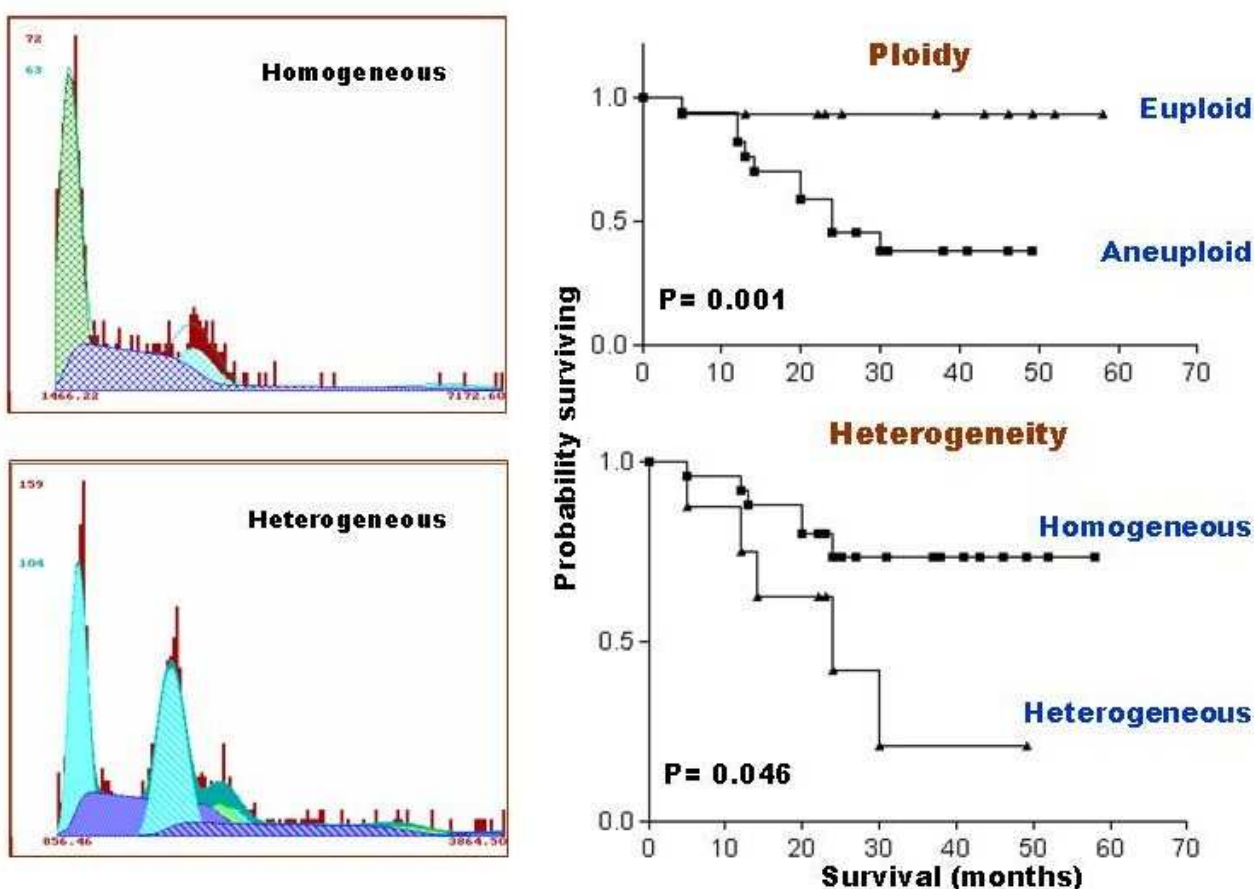
A sejtenkénti DNS tartalom és FISH - N-myc kópiaszám meghatározás további információkkal szolgál az adott daganat heterogén sejt-összetételéről, a sejtsztódás feltételezhető hibájáról, a globális kromoszómális instabilitásról, illetve a várható kórlefojáról (5. ábra).



5. ábra: **A:** Fél éves lány, neuroblastoma, 4S stádium. Átlagos N-myc kópiaszám FISH=2.3 (vörös szignál), PCR=2. Kettes kromoszóma szám = 2 (zöld szignál). A DNS hisztogram egy diploid és egy közel triploid daganatsejt szubpopulációt mutat. Ez a jelenség a mitotikus rekombináció zavarára és teljes kromoszóma-nyerésre utal, ami a 2. kromoszómát nem érinti. Jó prognózis, a gyermek 2 éve él, tumormentes. **B:** 2 éves fiú, neuroblastoma, 3. stádium. Átlagos N-myc kópiaszám FISH=több, mint 25, nem meghatározható (vörös szignál), PCR=300. Kettes kromoszóma szám = 3, 4 és 8 kópia (zöld szignál). A DNS hisztogram két aneuploid sejtpopuláció meglétét jelzi. A

felsorolt jelenségek generalizált genomális instabilitásra és strukturális kromoszómális elváltozásokra utalnak. Rossz várható kórlefordulás a diagnózis időpontjában agresszív kemoterápiás kezelés ellenére is. A kisfiú a diagnózist követő másfél év múlva meghalt daganatos betegség következtében.

Ha az egyes genetikai eltérések prognosztikai értékét egyváltozós statisztikai analízissel külön vizsgáljuk, az N-myc génamplifikációt mutató tumoros betegek túlélése valamivel kedvezőtlenebb volt mint azoké a betegeké, amelyek tumorában az N-myc nem volt amplifikált, de a különbség nem volt szignifikáns. Szoros pozitív összefüggés mutatkozott a sejtenkénti DNS tartalom (közvetve a genomális instabilitás) és a kórlefordulás között ($P=0.001$). Azoknak a betegeknek a túlélése sokkal kedvezőbb volt, amelyek tumora egy sejtpopulációból épült fel mint azoké a betegeké, amelyeknek tumora két vagy több aneuploid sejtpopulációt tartalmazott, vagyis globális genomális instabilitás állott fenn (6. ábra).



6. ábra: Összefüggés a ploidia illetve a tumor heterogenitása és a túlélés között. Az euploid illetve az egy sejtpopulációból felépülő tumorok kórlefordulása szignifikánsan kedvezőbb, mint a kromoszómálisan instabil aneuploid heterogén tumoroké.

2. Vastagbélrákok mikroszatellita instabilitás (MSI) vizsgálata

Korábban egy örökletes nem-polyposis vastagbélrák (HNPCC) szindrómában szenvedő családban a rák kialakulásának molekuláris genetikáját vizsgáltuk. 2004-ben a vastagbélrákok mikroszatellita vizsgálatát és a Braf gén 599. codonjának mutációját végeztük D5S346, BAT26,

BAT25, D17S250, D2S123 markerek illetve Braf specifikus LightCycler próbák segítségével. Összesen 139 részben válogatott vastagbélrák között 10 hereditér nem-polyposis eredetű colorectalis rák fordult elő. A daganatok további genetikai vizsgálata folyamatban van. Mindezek mellett további 16 sporadikus mikroszatellita instabil tumort is azonosítottunk. Mindezeknek a vizsgálatoknak terápiás jelentősége az, hogy MSI esetén az egyébként alkalmazandó 5FU alapú adjuváns kemoterápiás kezelés nemhogy javítja, hanem még rontja a betegek túlélési esélyét.

A Ras/Braf/Mek/Erk szignál központi szerepet játszik abban a folyamatban, ami a sejt proliferációhoz, differenciációhoz és sejt túléléshez vezet. A Braf gén funkció nyerő mutációja aktiválja ezt a szignál utat, a K-ras mutáció alternatíváját jelenti, és fokozott sejtproliferációt eredményezve hozzájárul a daganatos transzformációhoz. Azt találtuk, hogy a Braf 599. codonjának funkció-nyerő mutációja halmozottan fordul elő sporadikus MSI pozitív rákokban, de nem található meg az ugyancsak MSI pozitív HNPCC-ben.

D./ Tüdőrákok molekuláris pathológiája

Témavezető: dr. Kovács Gábor, Korányi TBC és Pulmonológiai Intézet

EGF receptor diagnosztikus panel a tüdőrák esetében.

A tüdőrákok kezelése napjainkban forradalmi változáson megy keresztül, melynek célpontja az EGF receptor. Az elmúlt években számos közlemény jelent meg melyek alapján egyértelmű az, hogy a tüdőrákokban (a kissejtes variáns kivételével) leggyakrabban expresszáldó onkogén az EGF receptor, melynek prognosztikus szerepe azonban ellentmondásos. Ugyanakkor számos olyan gyógyszer került forgalomba (hazánkban is), melyek ezen a receptoron keresztül hatnak. A Herceptin terápia protokolljából okulva célszerűnek látszik olyan diagnosztikus protokoll felállítása, amely a különböző új EGF receptor-gyógyszerek optimális használatát elősegíti.

Az EGF receptor-gyógyszerek két csoportja létezik, az EGF receptor elleni humanizált antitest (hazánkban az Erbitux) és az EGF receptor tirozin kinázát gátló gyógyszer (hazánkban az Iressa és az Erlotinib/Tarceva). Miután ezen gyógyszerek támadáspontja eltérő és hatékonyságukat genetikai tényezők is befolyásolhatják, nagy jelentősége van a betegek (illetve daganataik) megfelelő molekuláris kivizsgálásának. Ehhez ideális minta a primer vagy metasztatikus tüdőrák friss fagyasztott szövete volna, de végső esetben a paraffinos minta is megfelelő lehet. Tudni kell hogy az EGF receptor emberben legalább 3 formában jelenhet meg és ezen variánsok szerkezetileg jelentősen eltérnek egymástól, ami az esetleges terápia szempontjából döntő lehet.

Az EGF receptor elleni antitest-terápia feltétele az antitest által felismert (extracelluláris) receptor epitop jelenléte a daganatszövetben, ami az un. vad típusú receptor gén expresszióját feltételezi. Ugyanakkor eddigi adatok alapján ezen gyógyszer jobb hatású azon esetekben ha a receptor gén fokozottan expresszáldódik (amplifikálódik). A vad típusú EGF receptor fokozott expressziója a laphámrákokat jellemzi elsősorban.

Az EGF receptor tirozin kinázát gátló gyógyszerek főleg adenocarcinómákban hatékonyak, de kisebb arányban más szövettani típus esetén is hatásosak lehetnek (kivétel a kissejtes tüdőrák). Ez un. kinázgátló gyógyszerek hatékonyságához fokozott enzim működés kell, amit a receptor mutációi, fokozott expressziója és/vagy fokozott aktiválódása válthat ki. Külföldi (USA, Japán) vizsgálatok szerint ezen kinázgátló gyógyszerek nagy gyakorisággal (70-80%) voltak hatékonyak olyan adenocarcinómák esetében, amelyekben az EGF receptorának enzim-részében mutációk fordulnak elő. Ugyanakkor egyértelmű az a megfigyelés, hogy ezek a mutációk csakis kizárólagosan nemdohányzó nőkben voltak kimutathatók.

EGF receptor diagnosztikus algoritmus kidolgozása

Az Országos Korányi Intézetben megteremtődtek a feltételei annak, hogy a tüdőrákok kezelését forradalmasító új célzott terápiák számára ki lehessen szelektálni a betegeket. Miután a daganatban expresszáldó EGF receptor genetikai sajátossága és protein szintű expressziója alapvető a terápia

tervezéséhez, valamennyi szükséges módszer bevezetésre került. Első lépésben a daganatszövetben meg kell határozni az EGF receptor protein megjelenését (a Her2 terápiához hasonlóan 0-3+ skálán kell jelölni). A vizsgálatot a receptor un. külső ligand kötő doménjeire kell elvégezni, hiszen ezek határozzák meg, hogy az antitest-terápia számára szükséges részek jelen vannak-e a daganatban. Ezzel párhuzamosan el kell végezni az EGF receptor gén amplifikációs vizsgálatát, amit FISH módszerrel végzünk. Ehhez vagy lenyomati/citológiai készítmény vagy fagyasztott metszet, vagy paraffinos blokk szükséges.

A receptor működését annak autofoszforilációjából lehet megállapítani, amit immunhisztokémiai úton tudunk elvégezni a daganatszövetből (fagyasztott vagy paraffinos metszetben).

A kinázgátló gyógyszerek hatásához is szükség van az EGF receptor fehérje megjelenéséhez, de különböző az un. extracelluláris domén, azért az EGF receptor enzim-részét kimutató immunhisztokémiai eljárást alkalmazunk (fagyasztott metszetben vagy paraffinos blokkon). Amennyiben a beteg nemdohányzó nő és adenocarcinoma a szövettani típus, úgy a tirozin kináz régió mutációjának meghatározása ajánlott, mivel ez esetben a kinázgátló gyógyszer hatékonysága maximális. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy ezen gyógyszerek hatékonyak lehetnek ezen mutációk hiányában is.

A fentiek alapján látható, hogy a tüdőrákok EGF receptor terápiájának diagnosztikája igen komplex és sokoldalú vizsgálatokat igényel, melyeket együttesen kell alkalmazni és az eredmények tükrében kell a legcélravezetőbb terápiát megválasztani. Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a kereskedelmi forgalomban lévő immunhisztokémiai kitek a terápia szempontjából alapvető kérdések megválaszolását nem teszik lehetővé (enzimdomén jelen van-e vagy sem, aktív-e vagy sem és az extracelluláris régió jelen van-e vagy sem).

Irodalom:

Dancey JE. Predictive factors for epidermal growth factor receptor inhibitors. Cancer Cell 5:411-415,2004.

Cortes-Funes H, Soto Parra H. Extensive experience of disease control with gefitinib and the role of prognostic markers. Br J Cancer 89S2:S3-S8,2003.

Perez-Soler R et al. Determinants of tumor response and survival with Erlotinib in patients with non-small cell lung cancer. J Clin Oncol 22:3238-3247,2004.

Scagliotti GV et al. The biology of epidermal growth factor receptor in lung cancer. Clin Cancer Res 10:4227-4232,2004.

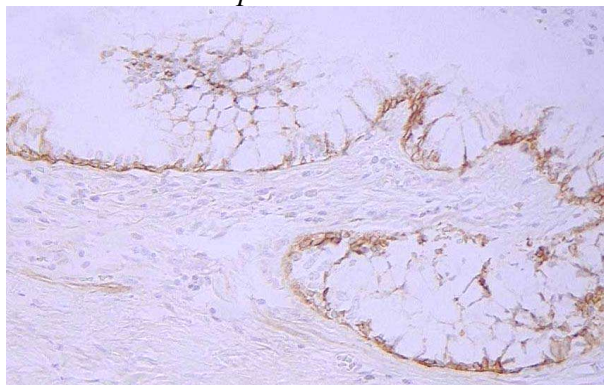
Pao et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from never smokers and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. PNAS 101:13306-13311,2004.

Tüdő adenokarcinómáinak EGF receptor expressziós mintázata hazánkban

A jelentési periódusban 51 St-1. tüdő adenokarcinóma EGFR expressziós mintázatát vizsgáltuk meg a forgalomban lévő DAKO EGFR diagnosztikus kit segítségével. Az adenocarcinoma mutathat laphám illetve neurogén differenciációs jeleket, így első lépésben CK és neurogén markerek felhasználásával ellenőriztük a tumorok homogenitását ebből a szempontból. Vizsgálataink szerint az 51 adenocarcinoma között nem volt laphám-differenciálódásra utaló jel és csak 1 olyan tumort találtunk, amelyben a tumorsejtek egy kis csoportja neurogén markert expresszált (CD56, NCAM).

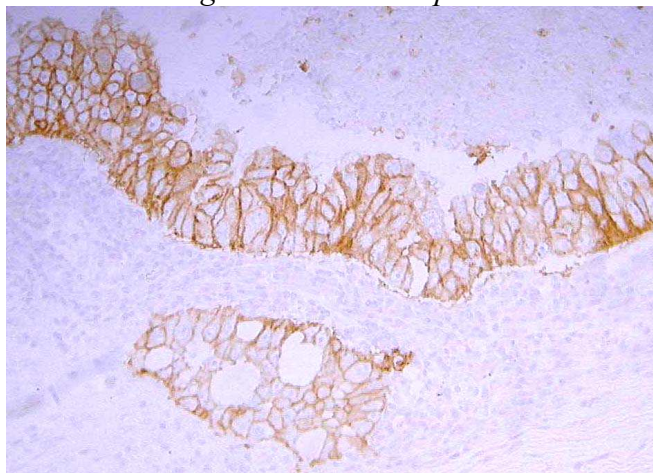
A vizsgált EGFR elleni antitest a receptor transzmembrán doménjét ismeri fel, így un. membrán-asszociált EGFR jelenlétéről ad felvilágosítást. Nagyon fontos az un. fiziológiás vagy vad-típusú EGFR lokalizációjának tisztázása a tüdőben. Vizsgálatunk szerint a wtEGFR a bronchus és bronchiolus hámsejtjeinek bazális, bazolaterális membránjában expresszálódik intenzíven. Ez a lokalizáció arra utal, hogy az EGFR a hengerhámsejtek bazális membrán-tapadásához (matrix-adhézió) és a sejtek egymáshoz való tapadásához (sejt-sejt adhézió) szükséges. Ezekben a sejtekben un. cytoplasmaticus EGFR nem mutatható ki az adott módszerrel.

1. ábra. EGF receptor lokalizáció bronchus hámsejtekben.



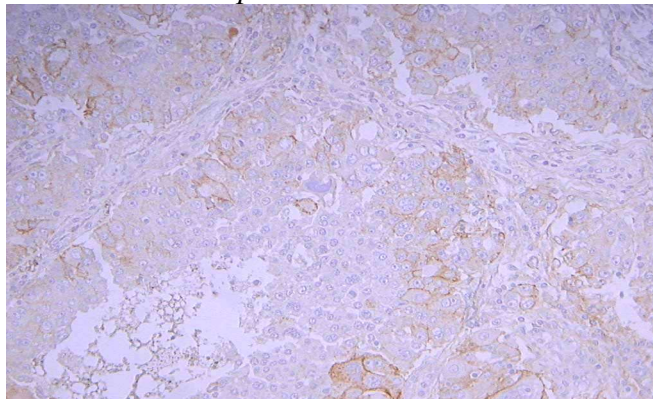
Az adenocarcinómákban az EGFR expresszió sokféle változást szenvedhet. Az adenocarcinómák egy jelentős részében az ún. normális EGFR mintázat (bazolaterális) marad meg (17/51, 33.3%). A tumorok közel felében a jelölődés diffúznan bizonyult (24/51, 47.1%). Az esetek mintegy felében ugyanakkor megváltozott az EGFR lokalizációja és általános membrán pozitivitás volt észlelhető, ami fokozott és diszregulált EGFR expressziót takarhat (27/51, 52.9%).

2. ábra. Un. daganatos EGF receptor lokalizáció adenocarcinómában.



A vizsgált 51 esetből csak 2 esetben észleltük az EGFR teljes hiányát, de ún. fokalitást (ami részleges EGFR elvesztésre utalhat) az adenocarcinómák mintegy felében mutatható ki (23/51, 45.1%). Ezzel összhangban az adenocarcinómák több mint felében a immunreakció intenzitása is gyenge volt (+, 32/51, 62.7%).

3. ábra. EGF receptor vesztés adenocarcinómában.



Közel fiziológias receptor jelölődési intenzitás (++-+++) a tumorok egyharmadában mutatható ki (17/51, 33.3%). Fontos észlelésünk, hogy fokozott és maximális intenzitású EGFR expresszió a tüdő adenocarcinómáinak csak egy kis hányadában volt megfigyelhető (5/51, 9.8%). Ezen esetek

döntő többsége egyúttal un. diffúz jelölődés, ami a tumor egyöntetű fokozott EGFR expressziója mellett szól. Érdekes módon, ezen esetek közül 2-ben ugyanakkor az un. normális EGFR mintázat volt észlelhető és csak 3 olyan eset volt az 51 között, ahol a diffúz és erős jelölődés a daganatos mintázat mellett állt fenn.

A fenti részletes morfológizálás az EGFR expresszió vonatkozásában szükségtelennek tűnhet. Ugyanakkor irodalmi adatokból tudjuk, hogy az USA-ban az adenocarcinomák kevesebb mint 10%-ban van EGFR mutáció/funkció változás, az EGFR amplifikáció nagyon ritka és ennél gyakoribb a 17 kr-polysomia, ami fokozott, de nem abnormális EGFR funkciót jelent (maga a gén nem változik meg). Saját anyagunkban a tanulság az, hogy a hazai adenocarcinomákban (melyek terápiájában az EGFR tirozinkináz gátlók kapnak szerepet) az esetek felében abnormális EGFR mintázat van azonban az esetek csak mintegy 10%-ban van erős (fokozott) receptor expresszió és ezeknek is csak egy részében változik meg a mintázat (daganatos forma). Ez utóbbi jelenség arra utalhat, hogy amennyiben a receptor protein expressziós szintje és mintázata összefügg a receptor fokozott és/vagy aberráns funkciójával, az esetek csak egy kis százalékában van ennek morfológiai jele. Nagyon fontos volna a kinázgátló kezeléssel átesett beteganyag feldolgozása ebből a szempontból (is).

A Széchenyi pályázat támogatásával 2004- ben készült közlemények

1. Szentirmay Z. Korszerű daganatpatológiai diagnosztika. Háziórv. Továbbképző Szle., 9:E15-24, 2004.
2. Schneider T, Tóth E, Molnár Zs, Várady E, Deák B, Horváth A, Horváth Gaudi I, Eid H, Schneider K, Lövey Js és Rosta A: Primer mediasztinális nagy B-sejtes lymphomák kezelése Orv. Hetil., 145:2531-2537, 2004
3. Szentirmay Z és Csuka O: A vastagbélrák molekuláris patológiája. In: A vastagbélrák megelőzése és szűrése. Ed.: Tulassay T. Springer Hungária. pp 19-54, 2004.
4. Szentirmay Z, Pólus K, Tamás L, Szentkúti G, Kurcsics J, Csernák E, Tóth E, and Kásler M: Human papillomavirus in head and neck cancer: clinicopathological correlates. Cancer Metast Rev. 24:17-32, 2005 IF: 1.982²⁰⁰³
5. Melegh Zs, Csernák E, Tóth E, Nagy K, Magyarossy E, Veleczki Zs and Szentirmay Z: DNA content heterogeneity by image cytometry in neuroblastoma and its potential significance. Virchows Arch. Közlésre elfogadva. IF: 2.357²⁰⁰³
6. Szántó I, Szentirmay Z, Banai J, Nagy P, Gonda G Vörös A, Kiss J és Bajtai A.: A nyelvőcső laphámsejtes papillomája. Klinikai és patológiai tapasztalataink 155 beteg 172 papillomája kapcsán. Orv. Hetil., Közlésre elfogadva.
7. Tóth Er, Schneider T, Melegh Zs, Csernák E, Udvarhelyi N, Rosta A, Szentirmay Z: Follicularis lymphomák komplex diagnosztikája. Magyar Onk., Közlésre benyújtva
8. Csernák E, Tóth E, Melegh Zs, Pekár Gy, Szőke J and Szentirmay Z: Detection and quantitation of MBR/JH2 t(14;18) bcl-2 gene rearrangement with real time PCR using FRET labeled probe and primer combined with SYBR Green I melting curve analysis: a fast, easy and cost-effective method. Közlésre beküldve