

SZENT ISTVÁN EGYETEM ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI KAR  
Patológiai Tanszék

# **Kutyák heredaganatainak incidencia, valamint E-cadherin alapú immunhisztokémiai vizsgálata**

**Készítette: Szilágyi Máté**

**Témavezető: Dr. Jakab Csaba**  
Patológiai Tanszék

**Budapest**  
**2013**

# Tartalomjegyzék

Bevezetés .....	3
1. Kutyák heredaganatainak csoportosítása.....	4
1.1. Gonadostromalis daganatok.....	4
1.1.1. Sertoli-sejtes daganat .....	4
1.1.2. Leydig-sejtes daganat (interstitialis sejtes tumor) .....	9
1.2. A germinatív sejtekből származó daganatok .....	12
1.2.1. Seminoma .....	12
1.3. Elsődleges vegyes heredaganatok .....	15
2. Incidenciai vizsgálatok kutyák heredaganataival kapcsolatban.....	16
2.1. Anyag és módszer (I.), Eredmények (I.).....	16
2.1.1. Histopathologia .....	17
2.1.2. Kor szerinti csoportosítás.....	17
2.1.3. Fajta szerinti csoportosítás .....	18
2.1.4. Daganattípusok szerinti csoportosítás.....	19
3. Kutyák heredaganatainak E-cadherin alapú immunhisztokémiai vizsgálata.....	29
3.1. Cadherinekn.....	29
3.2. E-cadherin.....	30
3.3. E-cadherin expresszió a herében .....	31
3.4. E-cadherin expresszió a kutyák heredaganataiban.....	31
3.5. Anyag és módszer (II.), Eredmények (II.).....	32
3.5.1. Immunhisztokémiai vizsgálat.....	32
3.5.2. Külső pozitív kontroll .....	32
3.5.3. Belső pozitív kontroll.....	37

3.5.4. E-cadherin alapú immunhisztokémiai vizsgálatok .....	39
4. Következtetések és összefoglalás .....	52
5. Summary .....	54
6. Irodalom jegyzék .....	55

# Bevezetés

A szakdolgozatomat a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Karának Patológiai Tanszékén készítettem. Témavezetőm Dr. Jakab Csaba egyetemi adjunktus volt. A szakdolgozat témája a kutyák különböző heredaganat-típusainak incidenciája vizsgálata, valamint a kutyák Leydig-, ill. Sertoli-sejtes heredaganatainak E-cadherin alapú immunhisztokémiai vizsgálata volt.

A dolgozat elkészítéséhez felhasznált patológiai mintákat, a tanszék paraffinos blokkokba ágyazott archívumából, tumorbankjából szelektáltuk. 2007. január 1. és 2013. január 31-e között diagnosztikai célból beérkezett, 147 heredaganatos esetet dolgoztunk fel. Az immunhisztokémiai, molekuláris patológiai vizsgálatokhoz, szintén a tanszéki mintákból választottunk 20 esetet.

Ezidáig, a kutyák heredaganatainak előfordulását, incidenciáját feldolgozó patológiai vizsgálat hazánkban még nem történt. E-cadherin alapú immunhisztokémiai vizsgálatokkal, tudomásunk szerint, eddig egy állatorvosi, angol nyelvű publikáció foglalkozott<sup>1</sup>. Az immunhisztokémiai vizsgálat a jelenkori daganat-patológia legmegbízhatóbb diagnosztikai módszere, amely a különböző heredaganatok elkülönítésében, pontos histotipizálásában segít. Az általa kialakított, pontos diagnózis alapot ad, egy bejelentési rendszeren működő, a kutyák heredaganat típusait feldolgozó incidenciája vizsgálathoz, oncológiai felmérésekhez, didaktikai elemzésekhez, comparatív kutatásokhoz, valamint a heredaganatok genesisének megértéséhez és gyógykezeléséhez.

A szakdolgozatom először a heredaganatok általános csoportosításával foglalkozik, ezt követően a daganatos esetek incidenciái áttekintésével, majd ezután térnek rá az immunhisztokémiai vizsgálatok tárgyalására.

# 1. Kutyák heredaganatainak csoportosítása

A kutyák leggyakoribb elsődleges heredaganatai kiindulhatnak az ivarredő (*plica urogenitalis*) elemeiből (**gonadostromalis tumorok**) és a here germinatív sejtjeiből (**csírasejtes tumorok**). Az előbbi csoportba a Sertoli-sejtes és a Leydig-sejtes, az utóbbi csoportba a seminoma tartozik.<sup>2</sup>

A primaer **vegyes heredaganatok**, az előbb említett két csoport elemeit egyszerre tartalmazzák. A here primaer (nem gonadostromalis és nem germinatív eredetű) daganatai közé soroljuk a mesothelialis eredetű **mesotheliomát**, amely a tunica vaginalis mesothel sejtjeiből származik, valamint az **egyéb mesenchymalis** (pl. kötőszöveti-, vérér-, nyirokér-, simaziom eredetű daganatokat), amelyek közül a gyakoribbak a fibroma, a fibrosarcoma, a haemangioma, a haemangiosarcoma, a lymphangioma, a lymphangiosarcoma, a leiomyoma és a leiomyosarcoma. Kutyákban előfordul ritkán a herecsatornák hámjából származó **rete testis adenoma**, ill. **-carcinoma**, amelyek általában cysticus formában jelennek meg. A metastaticus eredetű, secundaer daganatok ritkán fordulnak elő a here állományában, általában a test más területein kialakult lymphoma vagy haemangiosarcoma áttétei jelennek meg.<sup>2</sup>

Munkánk során a kutyák nem-seminomás: Sertoli-sejtes, Leydig-sejtes heredaganatait, ill. seminomáit dolgoztuk fel, ezért ezek rövid patológiai jellemzését kifejteném a következő alfejezetekben.

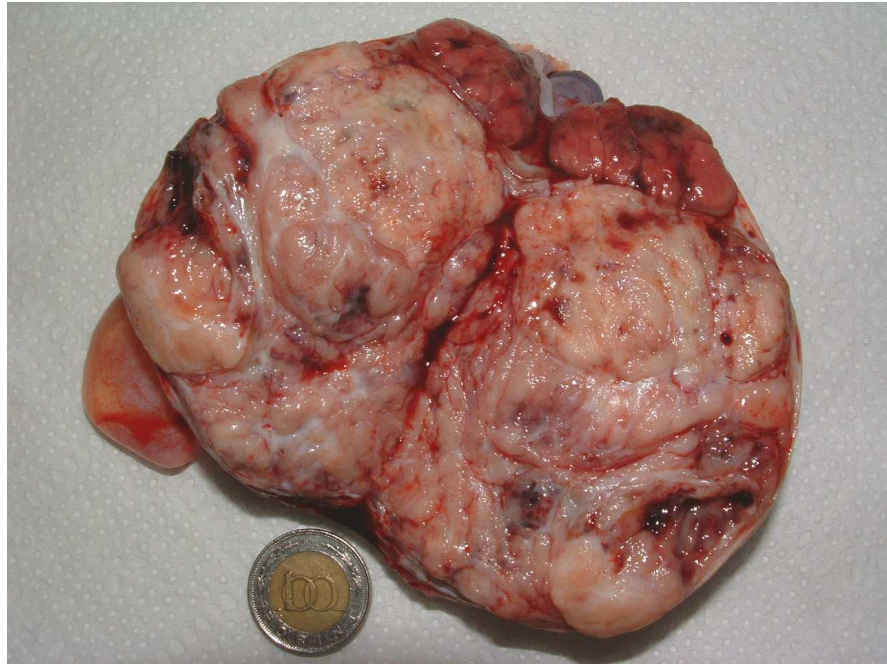
## 1.1. Gonadostromalis daganatok

### 1.1.1. Sertoli-sejtes daganat

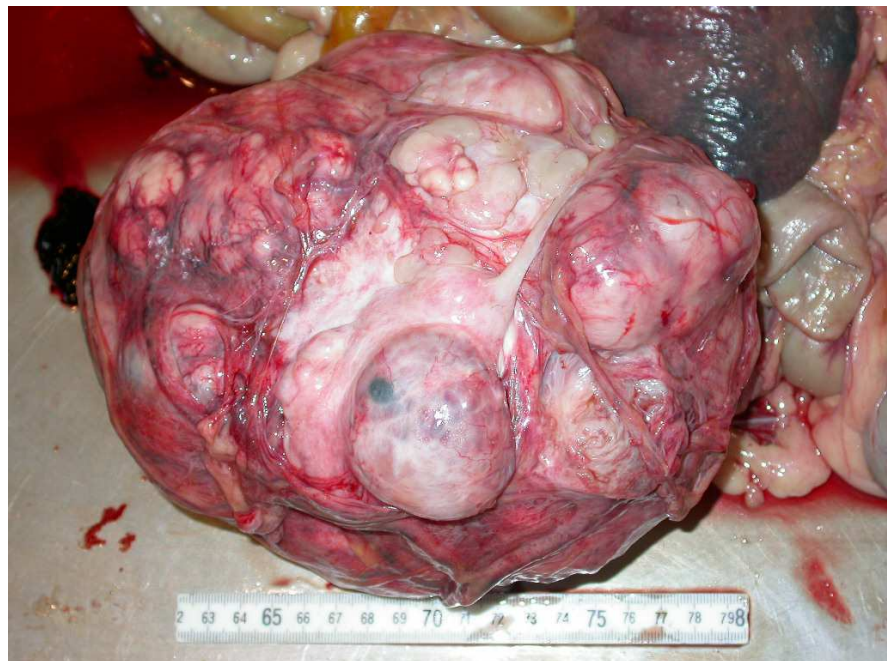
**Általános jellemzők:** Ez a daganattípus a tubuli seminiferi recti/contorti falában helyeződő Sertoli-féle dajkasejtek daganatos transzformálódását követően alakul ki. A Sertoli sejtes daganatok fele cryptorchid herékben alakult ki és hússzor nagyobb eséllyel alakul ki ez a

daganattípus cryptorchid herében, mint fiziológias helyeződésűben. Klinikopatológiailag lehet benignus és malignus, ill. megjelenhet csak az egyik oldali herében solitaer, vagy multiplex formában és megjelenhet bilateralisan is. Megközelítőleg a Sertoli sejtes daganatok 30%-a jár valamilyen másodlagos elváltozással, ami a daganat ösztrogén és inhibin termelő tulajdonságának a következménye (paraneoplasia). A hyperoestrogenismus megnyilvánulhat feminisatióban, gynecomastiában, a contralateralis here sorvadásában, a prosztata laphám metaplasiajában, alopeciában, csontvelősuppressióban. A daganat által termelt inhibin felelős a tesztoszteron termelés csökkenéséért a hipofízis FSH termelésének korlátozása miatt. Ennek a következményeként csökken az állat libidója, letargikussá válik és megindul a zsírraktárak átépülése. A csontvelősuppressio eredményeképpen anaemia, thrombocytopaenia, leukopaenia alakulhat ki. A szőrzeten bilaterális, szimmetrikus alopecia jelentkezhethet epidermalis atrophíával. A prosztata másodlagos gyulladása és ennek részeként neutrofil granulocytás beszűrődése is kialakulhat a laphám metaplasia mellett, a gynecomastia részeként pedig szukára emlékeztető viselkedés a kan kutyákkal szemben, valamint a tejmirigyek duzzanata és elongációja figyelhető meg. A fent említett tünetek kasztraivartalanítás (tumorectomia) után spontán megszűnnek abban az esetben, ha nem alakult ki extratesticularis áttét, amit nem távolítottak el.<sup>2</sup>

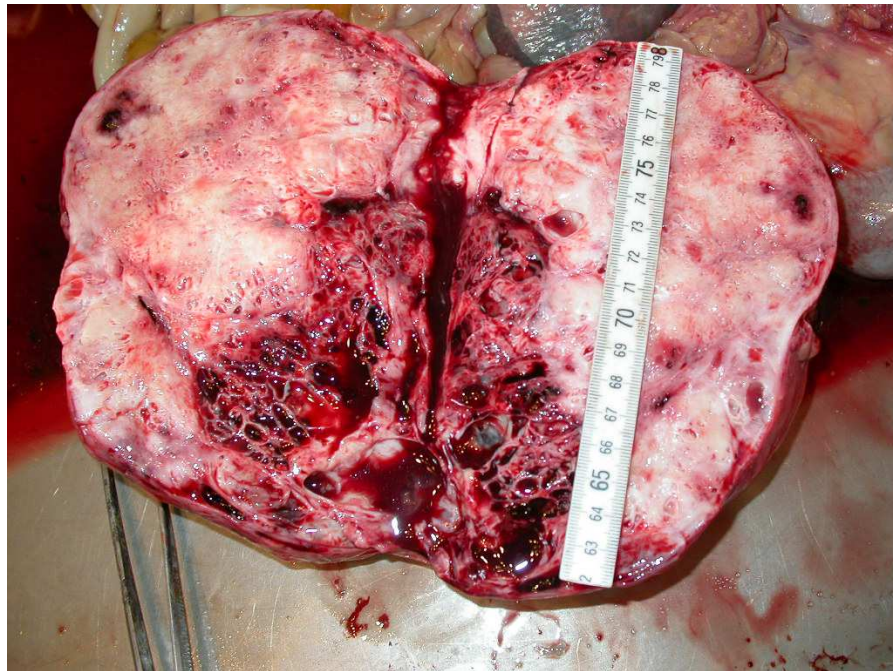
**Makroszkópos morfológia:** A Sertoli-sejtes daganatok nodularis, vagy multinodularis megjelenésűek, tömött tapintatúak (**1. ábra**). Növekedésük gyakran a környező szövetek torzulását, compressios sorvadását okozza. Általában benignus természetű daganatok és nem törnek be a környező szövetekbe, ill. vér- és nyirokerekbe. Malignus formáik (**2. ábra**) infiltrálják a környező szöveteket, leggyakrabban a tunica albugineát és a mellékherét. A daganat metszészlapja szürkésfehér, előfordulhatnak benne vérzéses területek (**3. ábra**).<sup>2</sup>



**1. ábra.** Kutyaiban, scrotalis herében kialakult, unilaterális diffúz, malignus Sertoli-sejtes tumor (bioptátum) felvétele.



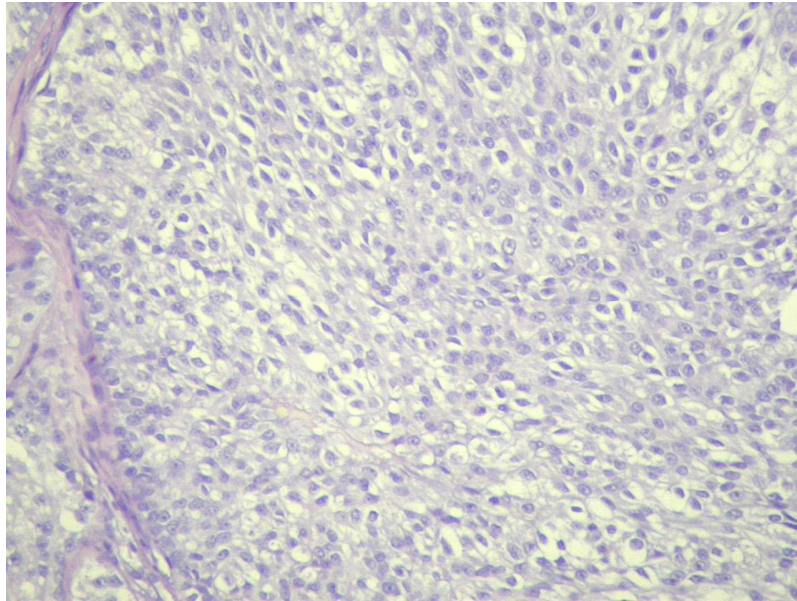
**2. ábra.** Hasüregi rejtett, unilaterális herében kialakult, a szervezetben disseminálódó, malignus Sertoli-sejtes tumor felvétele.



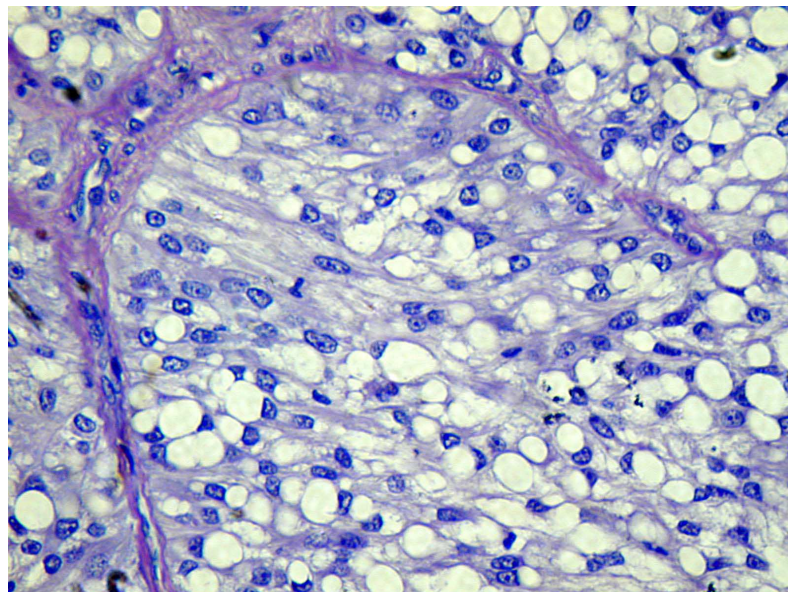
**3. ábra.** Az előző felvételen látható daganat metszészlapja.

**Mikroszkópos morfológia:** Kórszövettanilag intratubularis és diffúz (**4. ábra**) megjelenési formáját különböztetjük meg. Élettani körülmények között a Sertoli sejtek a tubuli semineferi recti és -contorti falában alkotják a vér-here barriert. Képezhetnek kisebb szigeteket, ill. tubularis elrendeződést is mutathatnak, mindkét esetben bőséges, érett fibrosus stroma tölti ki a szigetek és tubulusok közti területet. A daganatos sejtek elongáltak, kerek vagy megnyúlt sejtmaggal. A tumorsejtek eosinophil cytoplasmájában fokozott hormontermelés esetén lipidek (**5. ábra**), lipochrom pigmentek halmozódhatnak fel. Az intratubularis forma esetén jól felismerhető tubulusok képződnek, amelyekben több sorban találjuk a daganatosan transzformált Sertoli-sejteket. Diffúz forma esetén tubularis megjelenést nem látunk, viszont solid, szigetszerű elrendeződésben nagy mennyiségben látunk daganatos Sertoli-sejteket. Malignus tumor esetén a sejtek infiltrálják a környező szöveteket, nyirok- és vérereket.<sup>2</sup>





**4. ábra.** Kutya scrotalis heréjében kialakult, diffúz Sertoli-sejtes tumor felvétele, Haematoxylin és eosin-festés (H.-E.) 100x.



**5. ábra.** Lipidisált, diffúz Sertoli-sejtes heretumor kórszövettani felvétele, H.-E. 200x.

**Biológiai viselkedés:** A Sertoli-sejtes daganatok nagyrésze benignus természetű. Metastasis a nagy méretű, agresszívebb malignus daganatos elváltozások esetén alakul ki. A metastasisok esélye 2 cm alatti daganatok esetén jelentősen alacsonyabb mint a 2 cm felettieknél. Kórszövettanilag az intratubuláris forma általánosan benignus karakterű, míg a diffúz, malignus forma nagyobb eséllyel képez áttétet. Az áttétek morfológiailag hasonlítanak a primaer daganatra és hormonálisan aktívak lehetnek.<sup>2</sup>

### **1.1.2. Leydig-sejtes daganat (interstitialis sejtes tumor)**

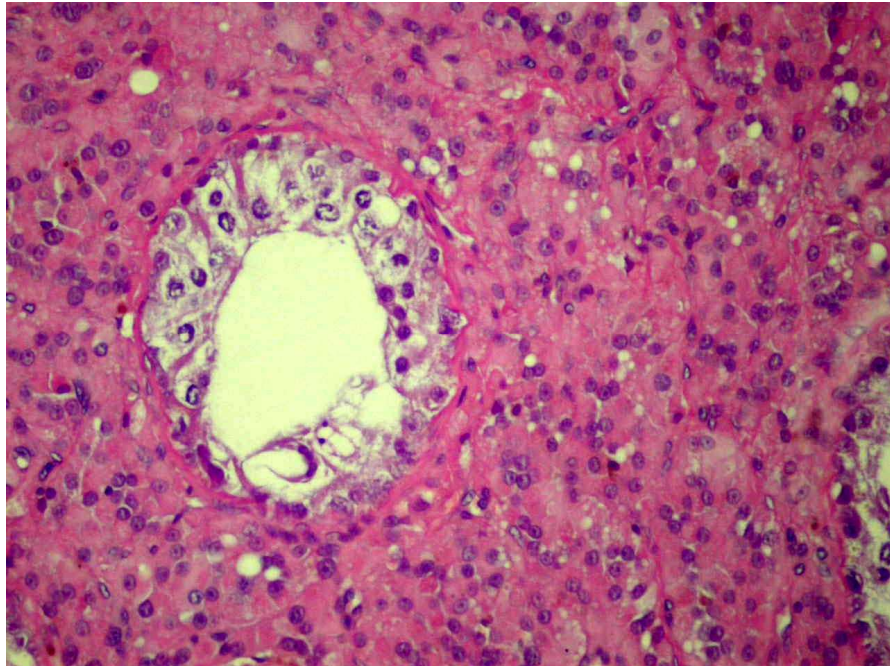
**Általános jellemzők:** Származását tekintve a here Leydig-sejtjeinek daganatos átalakulásának következménye. A Sertoli-sejtes daganathoz hasonlóan gyakrabban jelentkezik idős állatokban, valamint cryptorchid herében. A kutyákban klinikailag észlelt Leydig-sejtes daganatok jelentős része benignus természetű, ritkán számoltak be malignus elváltozásról. A Leydig sejtes daganatokat el kell különíteni a Leydig-sejtes hyperplasiától, amely az elváltozás mérete alapján történik. Makroszkópikus csomók esetén daganatról, mikroszkópikus elváltozás esetén pedig hyperplasiáról beszélünk.<sup>2</sup>

**Makroszkópos morfológia:** Leggyakrabban idős állatokban alakul ki, lehet uni- vagy bilaterális helyeződésű, valamint lehet egyedülálló vagy több gócban megjelenő. Általában kisméretű, jól körülírt, lágy tapintatú daganatok, az érintett here szövetében csak kimértékű torzulást okoznak. A környező szöveteket általában nem infiltrálják. Metszéspapjuk sárga vagy világosbarna, ill. a daganat állományában előfordulhatnak vérzések, haemocysták miatt gyakran vörös (**6. ábra**).<sup>2</sup>

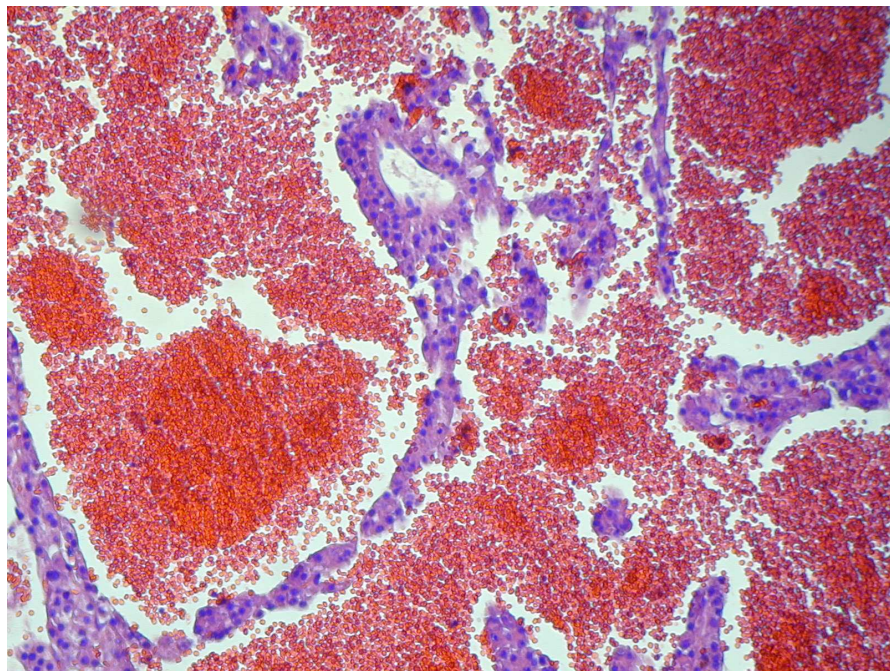


**6. ábra.** Cyticus-vascularis Leydig-sejtes heretumor metszészlapja kutya scrotalis heréjében.

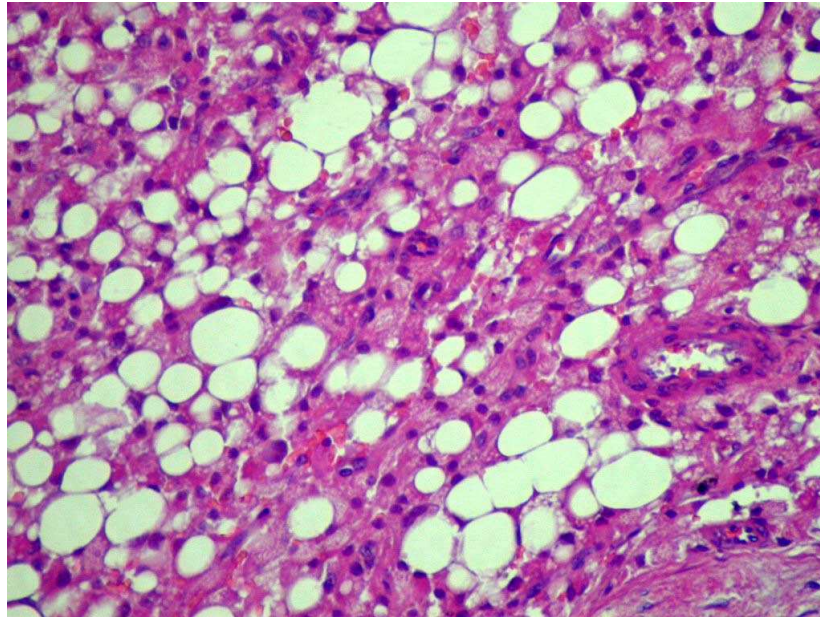
**Mikroszkópos morfológia:** A daganatos sejtek hasonlítanak az ép Leydig-sejtekre, kerekerek vagy polyhedralisak, cytoplasmájuk eosinophil festődésű benne vacuolumok vagy granulomok lehetnek (**7. ábra**), jelentős mennyiségű lipiddel (**9. ábra**). A sejtmagok kicsik, kerekdedek, sötétkék. Mitoticus alakok feltűnően ritkák. A daganatos sejtek vagy kisebb solid mezőkbe vagy nagyobb mirigyszerű vagy acinaris elrendeződésbe tömörülnek strómájukkal és a hozzájuk kapcsolódó, cysticusan tágult vérerekkel. Gyakori a cysticus-vascularis típus, amelynél a daganatsejtek kisebb-nagyobb cystákat vagy üregeket képeznek a daganat állományában, amelyek nagy mennyiségű vért tartalmaznak (**8. ábra**).<sup>2</sup>



**7. ábra.** Solid típusú Leydig-sejtes heretumor kutyában,  
H.-E., 100x.



**8. ábra.** Cysticus-vascularis Leydig-sejtes tumor  
kórszövetteni felvétele, H.-E., 40x.



**9. ábra.** Lipidisált Leydig-sejtes heretumor kutyában,  
H.-E., 100x.

**Biológiai viselkedés:** A Leydig-sejtes daganatok döntő többsége benignus, de malignus formák is előfordulhatnak (interstitialis sejtes carcinoma).<sup>2</sup>

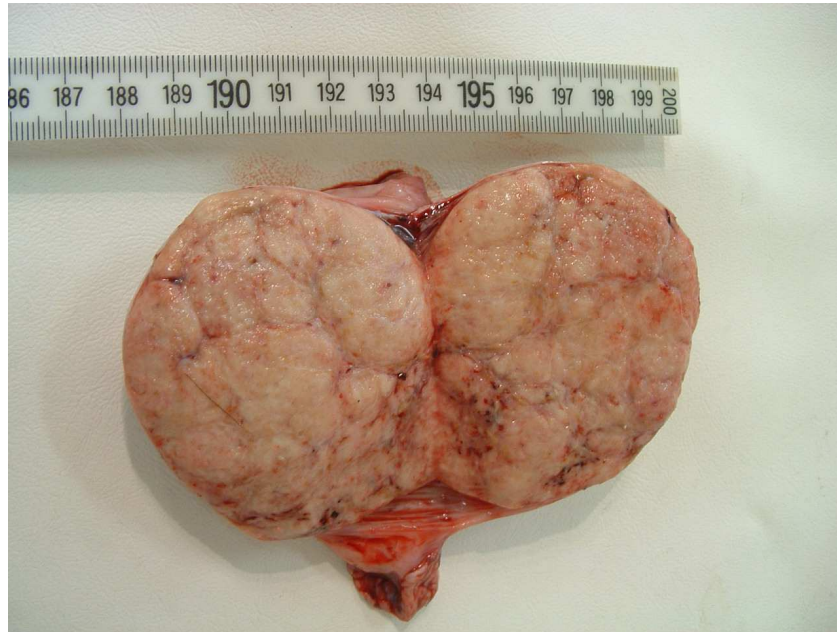
## 1.2. A germinatív sejtekből származó daganatok

### 1.2.1. Seminoma

**Általános jellemzők:** A herék leggyakoribb germinatív sejt eredetű daganatos elváltozása. A ductuli seminiferi recti, ill. -contorti spermatogenesisben résztvevő sejteinek malignus tumora. Háziállataink közül kutyában a leggyakoribb. Jelentős predisponáló tényező ennél a daganat típusnál is a cryptorchismus és az idős kor.<sup>2</sup>

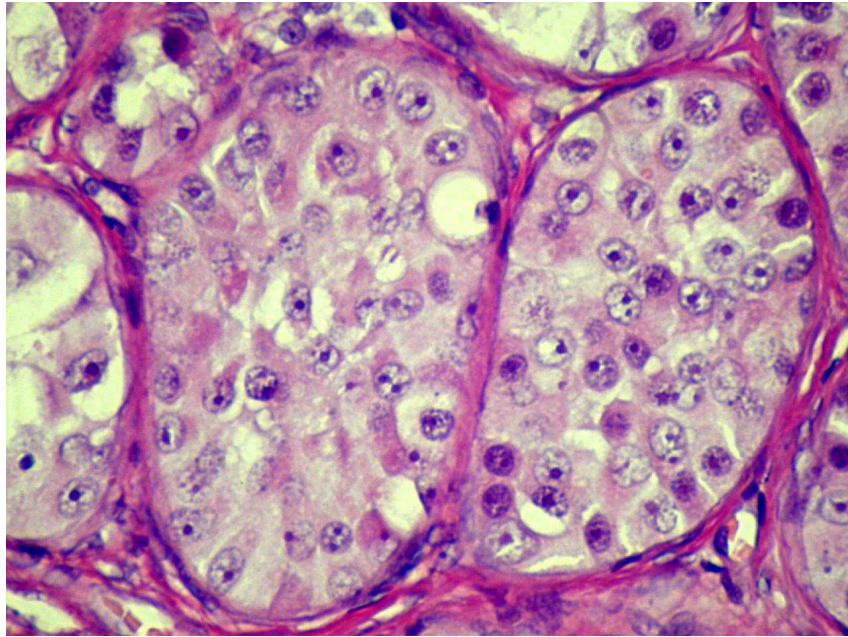
**Makroszkopos morfológia:** A daganat megjelenhet uni- és bilateralisan, solitaer, ill. multiplex formában és gyakrabban fordul elő jobb herében mint balban. Méretét tekintve változatos, a nagyobb daganatok jelentősen növelhetik az érintett here méretét, jelentős torzulást

és a here szöveteinek compressióját okozva (**10. ábra**). Tapintata lehet lágy, vagy tömött, metszészlapja szürkésfehér színű, előfordulhatnak állományában vérzések, ill. elhalások.<sup>2</sup>

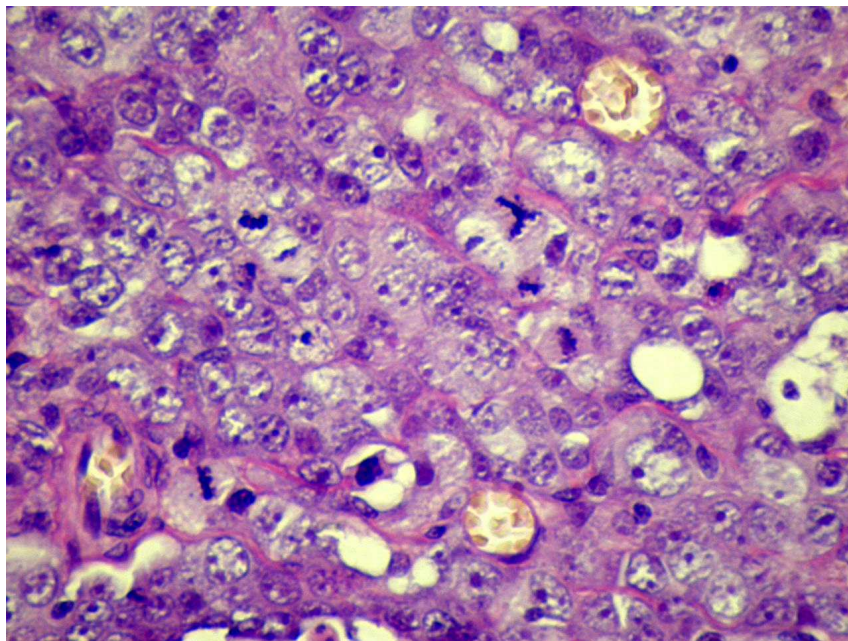


**10. ábra.** Jelentős méretű diffúz malignus seminoma, kutya scrotalis heréjében.

**Mikroszkópos morfológia:** A seminomákat kórszövettani megjelenésük alapján, intratubularis (**11. ábra**) és diffúz (**12. ábra**) típusra osztjuk. Az intratubularis forma alakul ki korábban. Neoplasticus germinatív sejtek aggregációjából áll, amely kitölti az érintett herecsatornák üregét, eltorzíva a herecsatorna szerkezetet. A daganatos sejtek megjelenése hasonlít a petefészekben kialakuló dysgerminomához: nagy méretű, éles határú polyhedralis sejtek, vesicularis sejtmaggal, prominens nucleolusszal és basophil cytoplasmával. Jelentős mennyiségű mitoticus daganatsejt jellemzi. Előfordulhatnak, tumor infiltráló, reaktív lymphocitákból álló góccok a daganat stromában, ill. parenchymában. Diffúz forma esetén a daganatos sejtek nagy kiterjedésű, solid mezőket formálnak, amelyekben az eredeti herecsatornákra jellemző morfológiai jegyek teljesen eltűnnek.<sup>2</sup>



**11. ábra.** Intratubularis (in situ) seminoma  
kórszövetteni felvétele, H.-E., 400x.



**12. ábra.** Diffúz seminoma, számos osztódó  
tumorsejttel állományában, H.-E., 400x.

**Biológiai viselkedés:** A malignus diffúz seminoma gyors progressióra: daganatos intravasatióra, metastasisra hajlamos.<sup>2</sup>

### **1.3. Elsődleges vegyes heredaganatok**

A vegyes heredaganatok a háziállataink közül a kutyákban a leggyakrabban előforduló tumorok. Kifejezett biológiai, patológiai polymorphismus jellemző rájuk. Komponenseik szöveti eredetüket tekintve lehet Sertoli-, Leydig-sejtes tumor és seminoma. Ezek megjelenhetnek kettős, vagy hármas kombinációban, valamint solitaer és multiplex alakban. Előfordul benignus vegyes heredaganat, amelyben Sertoli- és Leydig-sejtes tumor, ill. tumorok figyelhetők meg, ill. malignus vegyes heredaganat, amely benignus komponens mellett, malignus komponensből is áll, vagy tisztán malignus komponensei vannak. A külföldi felmérések szerint kutyákban, egy heredaganaton belül Sertoli-sejtes daganat és seminoma található. A vegyes heredaganatok, különböző gócból indulnak fejlődésnek. Előfordul, hogy klinikai észlelésük pillanatában egyetlen tumornak imponálnak. Ezekben az esetekben egybeolvadásos, vagy collisios heredaganatoknak nevezzük. Kórszövettanilag gyakorta észlelhető, hogy a vegyes heredaganatok malignus komponensei infiltrálják a komponens állományát, keveredve azok sejtes elemeivel.

A heretumorok pontos differenciálásához immunhisztokémiai eljárásra van szükség. Erre a célra NSE-t (neuron specifikus enolázt), vimentint, ill. desmint alkalmaznak, amely ellenanyagok a stromalis és a germinatív sejtípust elkülönítik a vegyes heretumoron belül. A Sertoli-sejtek festhetők pozitív immunreaktivitást mutatnak NSE-re és desminre, míg a germinatív sejtek negatívak. A Sertoli-sejtek diffúzan pozitívak vimentinra, viszont a germinatív sejtek csak focalisan. Cytokeratinokkal egyik sejtípus sem ad pozitív reakciót.<sup>2</sup>



## **2. Incidenciai vizsgálatok kutyák heredaganataival kapcsolatban**

Egy 2008-as publikáció <sup>3</sup> alapján, amely 232 elhullott esetet dolgozott fel, a kutyák 27%-ában alakult ki heredaganat, ami 62 esetet jelent, valamint összességében a 62 esetben, 110 daganatos gócot észleltek. Ezek közül 55 Leydig-sejtes daganatnak, 46 seminomának és 9 Sertoli-sejtes daganatnak bizonyult.<sup>3</sup>

Egy másik publikáció szerint <sup>4</sup> 318 patológiailag megvizsgált esetből, 175-ben (64,8%) találtak kóros elváltozást a kutyaherékben. Daganatos elváltozásokat 5,4%-ban találtak. A szerzők szerint cryptorchid esetekben 14,3-szor gyakoribb a daganatos transzformációnak az esélye.<sup>4</sup>

Ritkán tapasztalható kutyákban, extratesticularisan kialakuló Leydig-, ill. Sertoli-sejtes daganat, amelyek feltehetően a kasztrációt követően a scrotumban maradó, tumorsejt rezidiumokból alakulnak ki. Egy külföldi közlemény ír, 12 kutyában és 5 macskában, a kasztrációt követően, scrotumban recidiváló Leydig- valamint Sertoli-sejtes daganatokról. Egy esetben sem számoltak be áttétről sehol az állatok testében, még a daganatok műtéti eltávolítását követően sem.<sup>5</sup>

### **2.1. Anyag és módszer (I.), Eredmények (I.)**

Munkánk során a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Karának, Patológiai Tanszékére 2007. január 1. és 2013. január 31-e között diagnosztikai, kórszövettani tipizálás céljából beérkezett, kutyákból származó, 147 műtéti heredaganatos biopátumot dolgoztunk fel. A retrospektív incidencia vizsgálataink folyamán, a minták kísérőiratán feltüntetett adatok alapján

tanulmányoztuk a szelektált kutya populáció kor, fajta és daganattípus összetételét. Eredményinket táblázatokban összesítettük.

### **2.1.1. Histopathologia**

A mintákat szobahőmérsékleten, 24 órán át, 8 %-os pufferolt (PBS, pH 7.0) formaldehid-oldatban konzerváltuk. Az így nyert szövetmintákat *Shandon excesor szövetelőkészítő automatával* tettük alkalmassá a további feldolgozásra. Az automata szövetelőkészítőgép a 14 órás programja alatt 6 lépcsős felszálló alkohol-sorozat (4 x 1 óra, majd 2 x 1,5 óra) és 3 lépcsős felszálló xylol-sorozat (3 x 1 óra) után 3 lépésben (3 x 80 perc) 60 °C-os paraffinnal (*Shandon Histoplast Pelletised Paraffin Wax*) kontaminálta a szövetmintákat. A szövetelőkészítést a paraffinos beágyazás követte. A paraffinos blokkokból 3-4 µm vastagságú metszeteket készítettünk, amelyeket haematoxylinnal és eosinnal festettünk meg, *Shandon Varistain 24-4 automata festőgép* segítségével. A metszeteket Nikon Optiphot-2 típusú fénymikroszkóp segítségével analizáltuk.

### **2.1.2. Kor szerinti csoportosítás**

A heredaganatos kutyák életkora 3 és 17 év között mozgott. A 147 eset kor szerinti lebontása és az adott életkorú állatok előfordulási gyakoriságát az 1.táblázat mutatja be (**Táblázat 1.**).

**Táblázat 1.** A heredaganatos esetek, kutyák kora szerinti csoportosítása. (Huszonnégy esetben nem volt korról kapcsolatos adat a tanszéki nyilvántartásban.)

<b>Kor (év)</b>	<b>Esetszám (db)</b>	<b>Incidencia (%)</b>
3	3	2,04
4	0	0
5	8	5,44
6	3	2,04
7	9	6,12
8	10	6,8
9	16	10,88
10	21	14,28
11	17	11,56
12	15	10,2
13	6	4,08
14	10	6,8
15	4	2,72
16	0	0
17	1	0,68

### **2.1.3. Fajta szerinti csoportosítás**

A kiemelkedően érintett kutyafajták a következők voltak: a német juhász (8,16%), az uszkár (5,44%), a yorkshire terrier (4,76%) és a keverékek (21,09%). A fajták szerinti eloszlást a következő táblázat mutatja be (**Táblázat 2.**).

**Táblázat 2.** Heredaganattal diagnosztizált kutyák fajta szerinti csoportosítása.

Fajta	Esetszám (db)	Incidencia (%)	Fajta	Esetszám (db)	Incidencia (%)
Airedale terrier	1	0,68	Kuvasz	1	0,68
Alaszkai malamut	1	0,68	Labrador	1	0,68
Angol bulldog	1	0,68	Leonbergi	1	0,68
Angol szetter	2	1,36	Magyar vizsla	4	2,72
Argentín dog	2	1,36	Alaszkai malamut	1	0,68
Belga juhász	1	0,68	Német juhász	12	8,16
Berni pásztor	1	0,68	Pekingi palotapincsi	1	0,68
Bishon havanese	1	0,68	Puli	1	0,68
Bolognese	1	0,68	Rottweiler	1	0,68
Border collie	2	1,36	Shetland sheepdog	1	0,68
Boxer	1	0,68	Shih tzu	2	1,36
Cocker spániel	2	1,36	Skót juhász	1	0,68
Chow chow	2	1,36	Spániel	2	1,36
Dalmata	1	0,68	Staffordshire terrier	1	0,68
Dobermann	1	0,68	Tibeti terrier	3	2,04
Erdélyi kopó	2	1,36	Törpe snauzer	1	0,68
Foxterrier	1	0,68	Törpe uszkár	1	0,68
Golden retriever	3	2,04	Uszkár	8	5,44
Gordon szetter	1	0,68	Vizsla	1	0,68
Husky	2	1,36	West highland white terrier	2	1,36
Jagd terrier	1	0,68	Yorkshire terrier	7	4,76
Keverék	31	21,09	Újfundlandi	3	2,04

#### 2.1.4. Daganattípusok szerinti csoportosítás

A különböző daganattípusok gyakoriságát a következő táblázat ismerteti (**Táblázat 3.**), majd ezt követi az egyes típusokba tartozó daganatok incidenciájának részletes ismertetésére.

**Táblázat 3.** A különböző heredaganattípusok gyakorisága a megvizsgált mintákban (n=147)

<b>Daganattípus:</b>	<b>Esetszám:</b>	<b>Incidencia (%):</b>
<b>1. Seminoma</b>	78	53,06
<b>2. Leydig-sejtes tumor</b>	59	40,14
<b>3. Sertoli-sejtes tumor</b>	21	14,28
<b>4. Malignus vegyes heretumor</b>	3	2,04
<b>5. Benignus vegyes heretumor</b>	1	0,68
<b>6. Rete testis carcinoma</b>	1	0,68

#### **2.1.4.1. Seminomák csoportosítása**

**Táblázat 4.** Különböző seminoma típusok csoportosítása

<b>Típus</b>	<b>Esetszám</b>	<b>incidencia a seminomákon belül (%)</b>	<b>incidencia az összes eseten belül (%)</b>
<b>1. Diffúz seminoma</b>	64	82,05	43,53
<b>2. Intratubularis (in situ) seminoma</b>	13	16,66	8,84
<b>3. Lipidizált seminoma</b>	1	1,28	0,68

**Táblázat 5.** A seminómák előfordulása más daganatokkal együtt, malignus vegyes heretumороkban.

Típus	Esetszám	Incidencia a seminómákon belül (%)	Incidencia az összes eseten belül (%)
1. Cysticus-vascularis Leydig-sejtes tumor /diffúz seminoma	1	1,28	0,68
2. Solid Leydig-sejtes tumor/intratubularis seminoma	2	2,56	1,36
3. Solid Leydig-sejtes tumor/diffúz seminoma	3	3,85	2,04
4. Rete testis carcinoma/ diffúz seminoma	1	1,28	0,68
5. Sertoli-sejtes tumor/diffúz seminoma	4	5,13	2,72

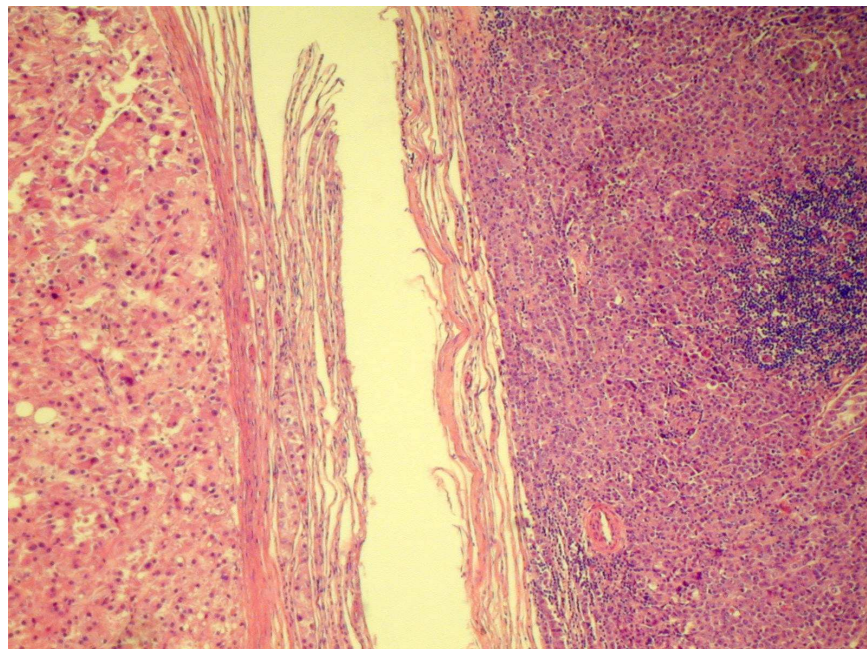
A következő ábrák (**13-15. ábra**) a tanszéki esetek közül mutatnak be seminoma komponenst is tartalmazó malignus vegyes heretumороkat.



**13. ábra:** Diffúz seminoma és multiplex Leydig-sejtes, malignus vegyes heretumor makroszkópos felvétele.



**14. ábra.** Diffúz seminoma és Leydig-sejtes, malignus vegyes heretumor makroszkópos felvétele. Jobboldalt az intact here látható.



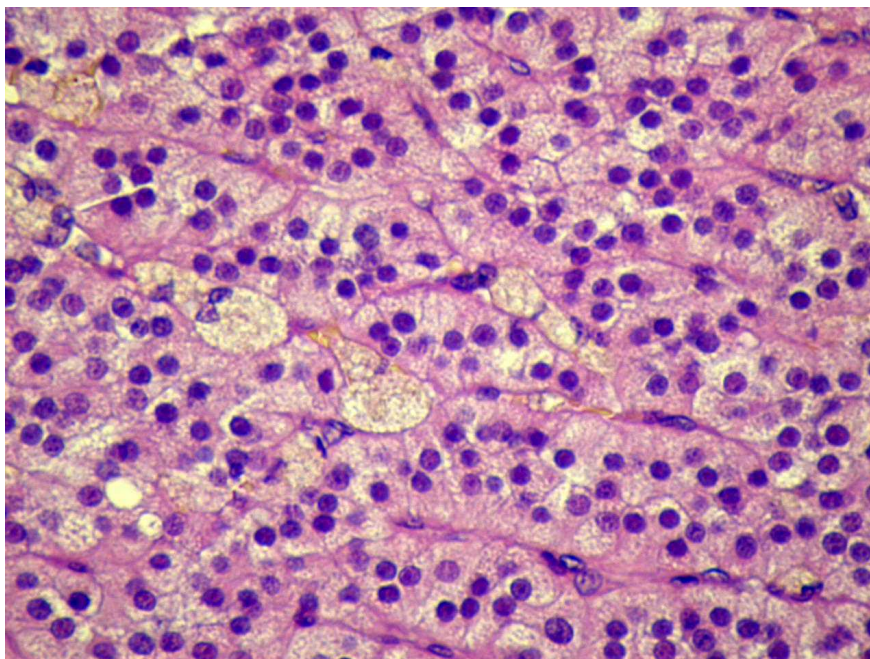
**15. ábra.** A kórszövettani felvétel baloldalán a Leydig-sejtes, a jobboldalán a diffúz seminoma komponens látható, H.-E., 40x.

### 2.4.1.2. Leydig sejtés daganatok csoportosítása

**Táblázat 6.** Leydig sejtés daganatok kórszövettani csoportosítása.

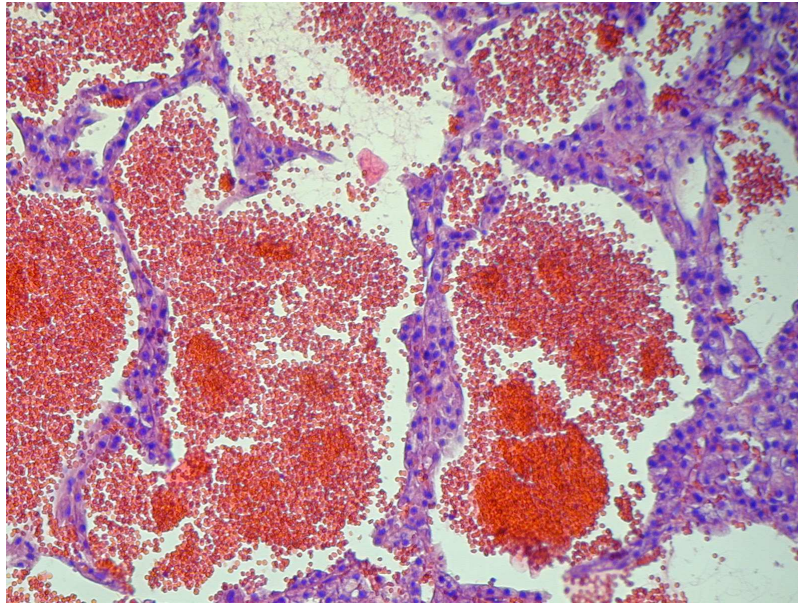
Típus	Esetszám	Incidencia a Leydig- sejtés daganatokon belül (%)	Incidencia az összes eseten belül (%)
1.Solid Leydig-sejtés tumor	55	93,22	37,41
2.Cysticus-vascularis Leydig-sejtés tumor	4	6,88	2,72
3.Mucinosus Leydig-sejtés tumor	0	0	0

A következő ábrák a tanszéki mintaállományból származó kórszövettani felvételek különböző Leydig-sejtés daganatokról (**16-19. ábra**).

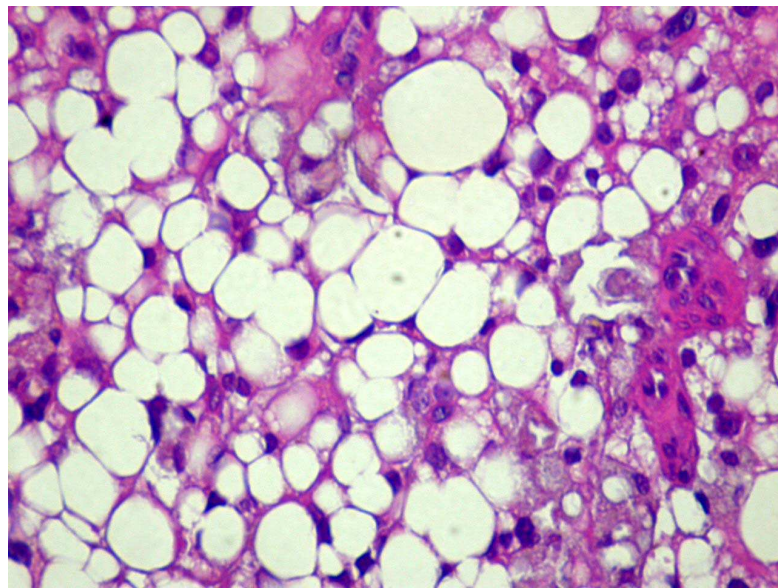


**16. ábra.** Kutya solid Leydig-sejtés tumorának kórszövettanifelvele, H.-E., 200x.

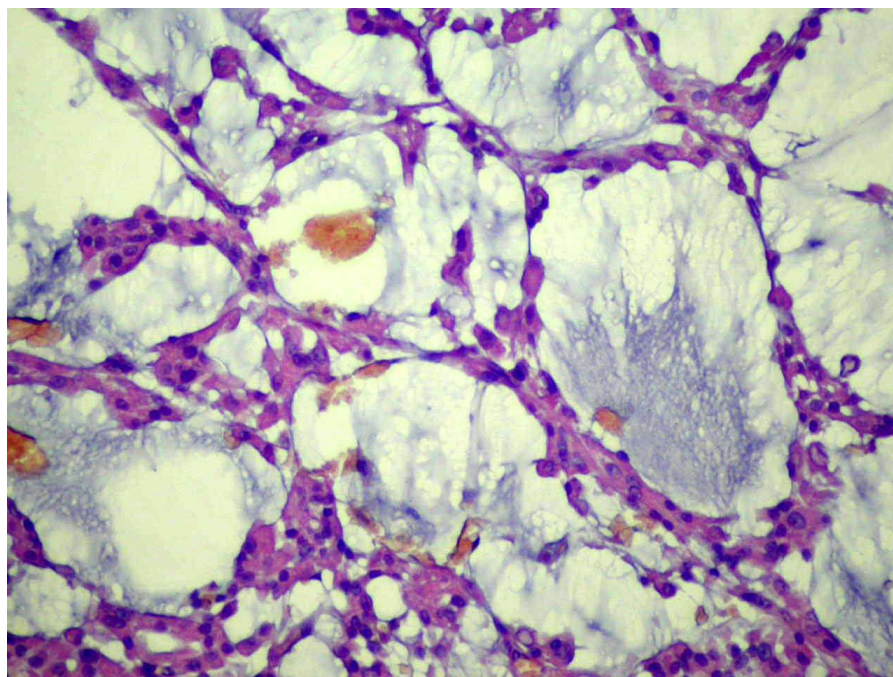




**17. ábra.** Kutya cysticus-vascularis Leydig-sejtes tumorának kórszövettani felvétele, H.-E., 100x.



**18. ábra.** Kutya solid lipidisalt, Leydig-sejtes tumorának kórszövettani felvétele, H.-E., 200x



**19. ábra.** Kutya mucinosus Leydig-sejtes tumorának kórszövettani felvétele, H.-E., 100x.

**Táblázat 7.** Leydig-sejtes daganatok előfordulása más daganatokkal együtt, vegyes heredaganatokban.

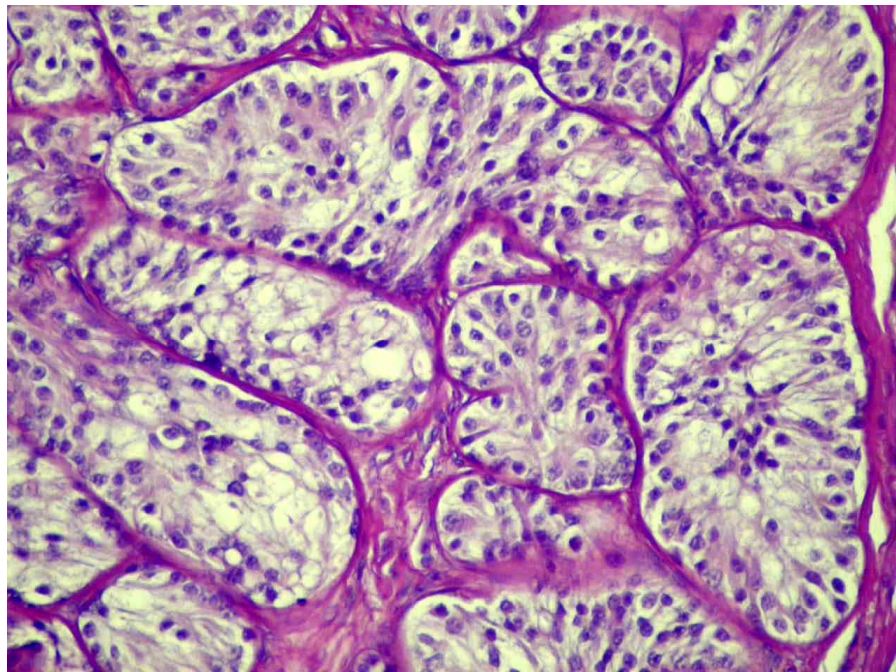
Típus	Esetszám	Incidencia a Leydig-sejtes daganatokon belül (%)	Incidencia az összes eseten belül (%)
1. Diffúz Sertoli-/Leydig-sejtes tumor	5	8,45	3,4
2. Intratubularis seminoma/Leydig-sejtes tumor	2	3,39	1,36
3. Diffúz seminoma/Leydig-sejtes tumor	1	1,69	0,68

### 2.4.1.3. Sertoli sejtes daganatok csoportosítása

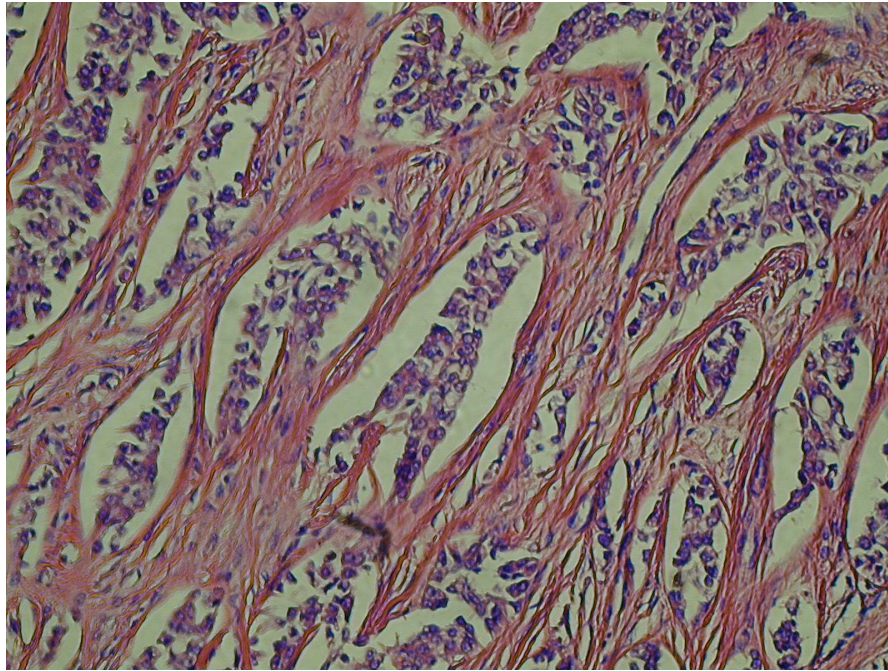
Táblázat 8. Sertoli-sejtes daganatok csoportosítása.

Típus	Esetszám	incidencia a Sertoli sejtes daganatokon belül (%)	incidencia az összes eseten belül (%)
1. diffúz desmoplasticus Sertoli-sejtes	1	4,76	0,68
2. diffúz Sertoli-sejtes	18	85,71	12,24
3. intratubularis Sertoli-sejtes	2	9,52	1,36

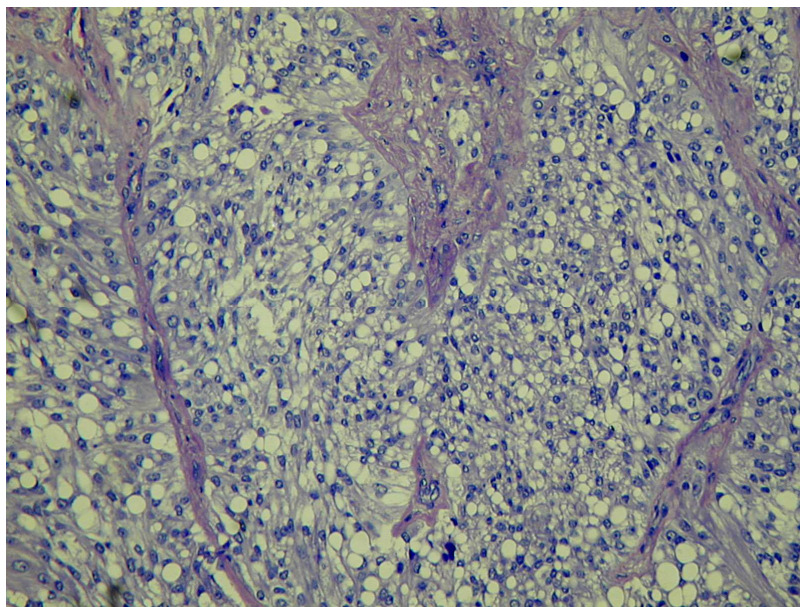
A következő felvételek a különböző Sertoli-sejtes tumorokat mutatják be a tanszéki mintákból (20-22. ábra).



20. ábra. Kutya benignus, intratubularis Sertoli-sejtes heretumorának kórszövettani felvétele, H.-E., 100x.



**21. ábra.** Kutya benignus, desmoplasticus,  
Sertoli-sejtes heretumorának kórszövettani felvétele, H.-E., 100x.



**22. ábra.** Kutya malignus, diffúz, lipidisált Sertoli-sejtes  
heretumorának kórszövettani felvétele, H.-E., 100x.

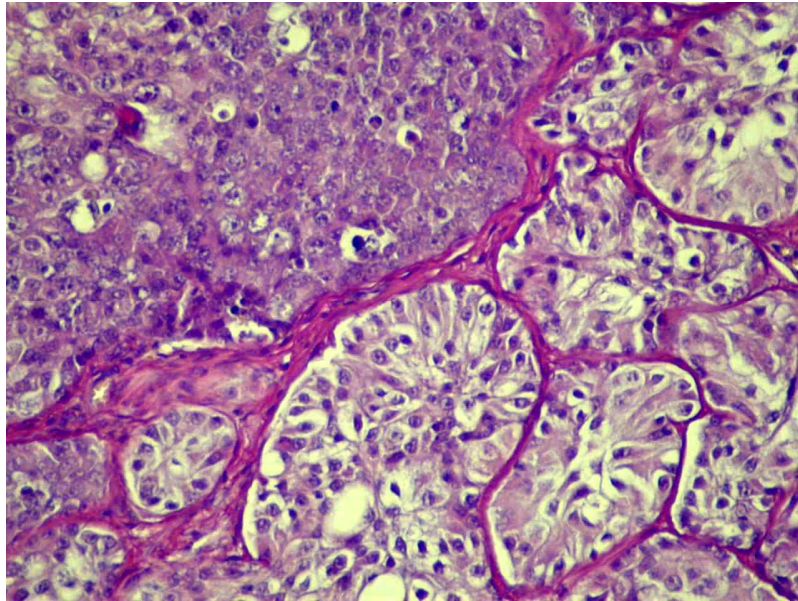
**Táblázat 9.** Sertoli-sejtes daganatok előfordulása más daganatokkal, vegyes heretumorkban.

Típus	Esetszám	Incidencia a Sertoli- sejtes daganatokon belül (%)	Incidencia az összes eseten belül (%)
1. Diffúz seminoma/ Sertoli-sejtes tumor	8	38,1	5,44
2. Leydig-sejtes/Sertoli- sejtes tumor	1	4,76	0,68
Leydig sejtes és Sertoli sejtes	3	14,29	2,04

A következő ábrákon Sertoli-sejtes komponenst is tartalmazó vegyes heretumorkról készült makroszkópos és kórszövetani felvételek láthatóak (**23-24. ábra**).



**23. ábra.** Kutya unilateralis, Sertoli-sejtes tumor és seminoma komponensekből felépülő, malignus vegyes heretumorának felvétele.



**24. ábra.** A malignus vegyes heretumor kórszöveti felvételének baloldalán a diffúz seminoma, jobboldalán és alul az intratubularis Sertoli-sejtes tumor komponens látható, H.-E., 200x.

### **3. Kutyák heredaganatainak E-cadherin alapú immunhisztokémiai vizsgálata**

#### **3.1. Cadherineek**

A cadherineek 1-es típusú, alpha helicalis szerkezetű, transzmembrán fehérjék, amelyek a baktériumok belső, ill. az eukaryota sejtek plasmamembránjaiban találhatóak. Fontos szerepet játszanak a sejtadhesio kialakításában, biztosítva a sejtek és szövetek kapcsolatát. Működésük calcium dependens.<sup>6</sup> A cadherin szupercsalád nagyrészt klasszikus, desmosomalis és protocadherinekből, valamint még nem klasszifikált cadherinekből áll.<sup>7</sup> Ezen molekuláknak a calcium kötő alegységét nevezzük cadherineek és az alegységeken belül is különböző osztályokat különböztetünk meg, amelyeket prefixekkel külön jelölünk, attól függően, hogy mely szövetben

található az adott cadherin. Megfigyelték, hogy adott altípusú cadherint tartalmazó sejtek, homogen csoportokba tömörülnek, míg a más cadherinekkal rendelkező sejteket kirekesztik a saját populációjukból.<sup>8</sup>

A cadherineinek polipeptidekből alakulnak ki, egy többlépcsős folyamat eredményeképpen.<sup>9</sup> Felépítésükben körülbelül 720-750 aminosav vesz részt. A cadherin molekulák egy cytoplasmaticus, egy transmembran, és egy extracellularis domenből épül fel. A cadherineinek receptorként és ligandként is viselkedhetnek.

Az embrió fejlődése során egyik fő feladatuk az osztódó sejtek megfelelő pozicionálása, így nagyban hozzájárulnak a különböző csírarétegek kialakításához.<sup>10</sup> A fejlődés korai szakaszában, az E-cadherin (epithelialis cadherin) expressziója a legkifejezettebb. A következő szakaszban az idegrendszer fokozódó fejlődése miatt az N-cadherin (neuralis cadherin) kifejeződése fokozódik, és az E-cadheriné csökken. Végül a gerinchúr fejlődése alatt az E-, P- (placentaris) és N-cadherin expresszió is növekszik. Az emryogenesis követően a cadherineinek fontos szerepet játszanak a sejtek és szövetek adhesiojának fenntartásában.<sup>11</sup>

## 3.2. E-cadherin

Az E-cadherin (Cadherin-1, CAM 120/80, epithelialis cadherin, uvomorulin) a CDH1 gén által kódolt<sup>12</sup>, tumorszupresszor fehérje, amely fontos szerepet játszik a sejt-sejt kapcsolatok kialakításában.<sup>13</sup> Egy öttagú extracellularis, egy transmembran és egy konzervatív cytoplasmaticus domenből épül fel. Ez utóbbi kapcsolódik a P120-cateninnel és a béta-cateninnel. A human megfigyelések szerint, a fehérjét kódoló gén mutációja hajlamosít gyomor-, mell-, vastagbél-, pajzsmirigy- és petefészek daganatok kialakulására.<sup>14</sup> Az E-cadherin expresszió elvesztése nagy szerepet játszik nemcsak a primaer daganatos elváltozások, hanem a metastasisok kialakulásában is.<sup>15</sup> A fehérje expressziójának csökkenésével, gyengül az adott szövetet felépítő sejtek adhesiójának erőssége, amelynek következményeképpen fokozódik a sejtek kóros motilitása. A neoplasticusan átalakult sejtek ezáltal képesek lesznek áthatolni az alaphártyákon és infiltrálni a környező szöveteket.<sup>15</sup> A molekula cytoplasmaticus vége képes megkötni a  $\beta$ -catenint, amely így a membránkötött formában van jelen és nem szabadon a sejtplasmában. A

nem kötött, szabad  $\beta$ -catenin molekulák képesek a sejtmagba jutni és fokozni az EMT-t (epithelialis-mesenchymalis transitiót) indukáló transzkripciós faktorok expresszióját, amelynek következtében az hámsejtek adhesiója csökken és invazív, valamint migrációs képességekkel rendelkező neoplastikus mesenchymalis sejtekké alakulhatnak. Ezek a daganatos mesenchymalis sejtek megfelelő mikrokörnyezetben újra epithelialis daganatsejtekké alakulhatnak (MET-mesenchymalis-epithelialis transitio).<sup>16</sup>

### **3.3. E-cadherin expresszió a herében**

A külföldi molekuláris vizsgálatok kimutatták, hogy a here kanyarulat csatornáinak hámjára nem jellemző az E-cadherin expresszió, sem az egyedfejlődés különböző szakaszai alatt, sem a kifejlett patkányban,<sup>17</sup> viszont kifejlett állatok A-típusú spermatogoniumainak plasmamembránjain jelentős mennyiségű E-cadherin molekulát találtak.<sup>18</sup> A vemhesség 16. és 19. napja közt a Sertoli-sejtek előalakjai mutattak jelentős expressziót, de a legszembetűnőbb a Leydig-sejtek pozitivitása volt a vemhesség 17. napjától.<sup>19</sup>

Kutyában a hereszövet E-cadherin expressziójával kapcsolatban kevés információ áll rendelkezésünkre. Az intact Leydig-sejtek mutatnak erős pozitívítást felnőtt állatokban.<sup>1</sup> Az E-cadherinen kívül más cadherineket is használhatóak markerként: fokozott N-, ill. P-cadherin expressziót figyeltek meg Leydig-sejtes daganatokban és Leydig-sejtes hyperplasiában.<sup>20</sup>

### **3.4. E-cadherin expresszió a kutyák heredaganataiban**

Az állatorvosi külföldi immunhisztokémiai vizsgálatok alapján, a kutyák intact Sertoli-sejtjei, a spermiocytogenesisben résztvevő sejtjei, interstitialis alkotói E-cadherin negatívak. Az intact Leydig-sejtek, a rete testis hámsejtjei intenzív membránpozitívítást mutattak. A daganatos elváltozások immunhisztokémiai vizsgálata látszólag ellentmondásos eredményt mutatott. A kutyák Leydig-sejtes heretumori E-cadherin negatívnak, Sertoli-sejtes daganatai E-cadherin



pozitívak voltak. A seminomák szintén negativitást mutattak.<sup>1</sup> Humán vonatkozásban nem jellemző az E-cadherin expresszió seminomák, ill. dysgerminomák membránjain.<sup>21</sup>

## **3.5. Anyag és módszer (II.), Eredmények (II.)**

A vizsgálatainkhoz a SZIE-ÁOTK Patológiai Tanszékére 2009. január 1. és 2013. április 15-e között, diagnosztikai célból beküldött, kutyákból származó, 20 necropsiás, paraffinos blokkokba ágyazott daganatos vizsgálati anyagokat használtunk fel.

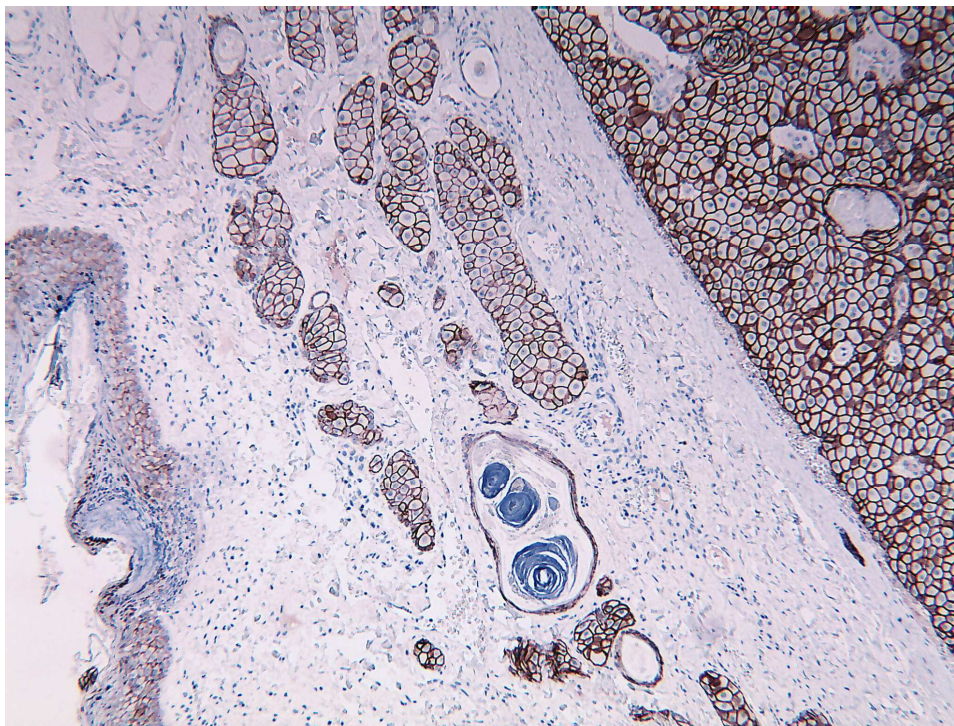
### **3.5.1. Immunhisztokémiai vizsgálat**

Az immunhisztokémiai vizsgálatokhoz a metszeteket kétszer váltott xyloiban (2x10 percen keresztül), majd háromszor váltott alkoholban (3x5 percen át 100%-os, 70%-os és 50%-os alkohol) deparaffináltuk, majd 1x-es PBS-sel való mosás után antigén feltárást végeztünk. Az antigének feltárása magas hőmérsékleten, mikrohullámmal (30 perc, 800 W) történt, kiegészítve Target Retrieval Solution feltáró oldattal (DAKO, Glostrup, Dánia, pH 6). Az endogen-peroxidáz aktivitását 0,3%-os H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dal, metanolban blokkoltuk 5 percen keresztül. A vizsgálatainkhoz E-cadherin nyúl, polyclonalis, IgG típusú antitestet használtunk fel, 1:100 hígításban. Az immunhisztokémiai reakciókat avidin-biotin immunperoxidáz rendszerrel (DAKO LSAB2 Kit) és DAB (diamino-benzidín) chromogennel tettük láthatóvá. A kontrasztfestés Mayer-féle haemalaunnal történt. A negatív kontroll metszeteket az elsődleges antitestek kihagyásával készítettük.

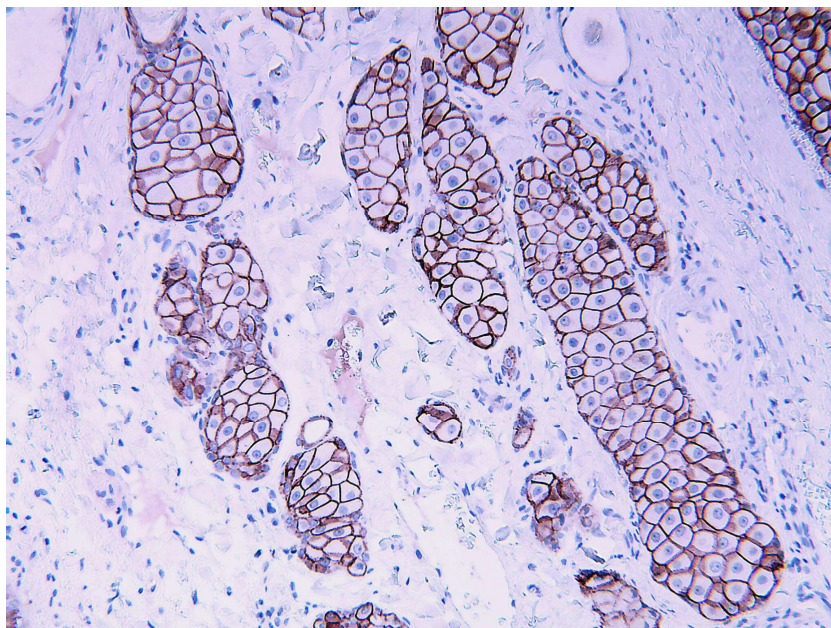
### **3.5.2. Külső pozitív kontroll**

Az immunhisztokémiai reakciók kiértékelése során külső pozitív kontrollként, kutya intact perianalis mirigyét (**25-27. ábrák**), adenomáját (**25., 28-30. ábrák**), valamint felszíni hámját (**31. ábra**) használtuk. Az immunhisztokémiai vizsgálat során a külső pozitív

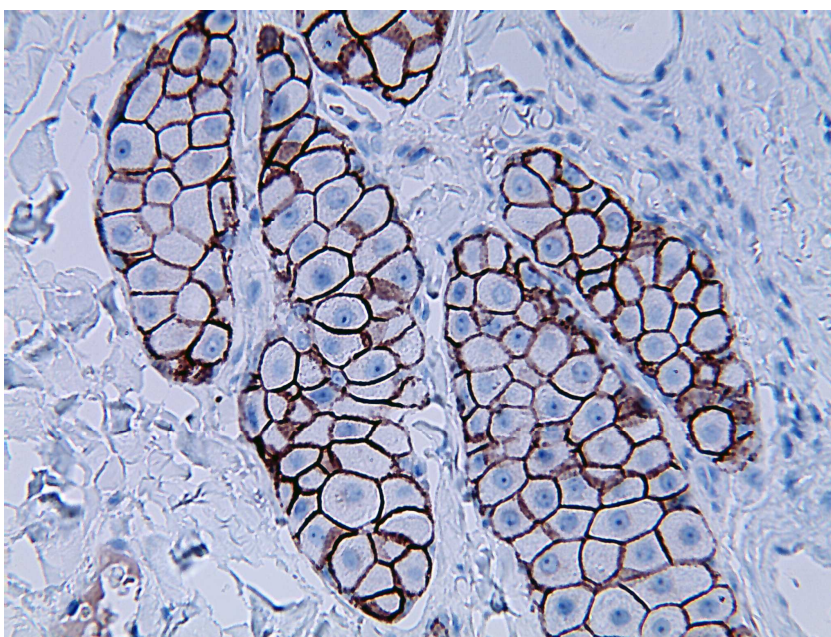
kontollokban diffúz, homogen, intenzív, linearis, membrán E-cadherin pozitivitás figyeltünk meg.



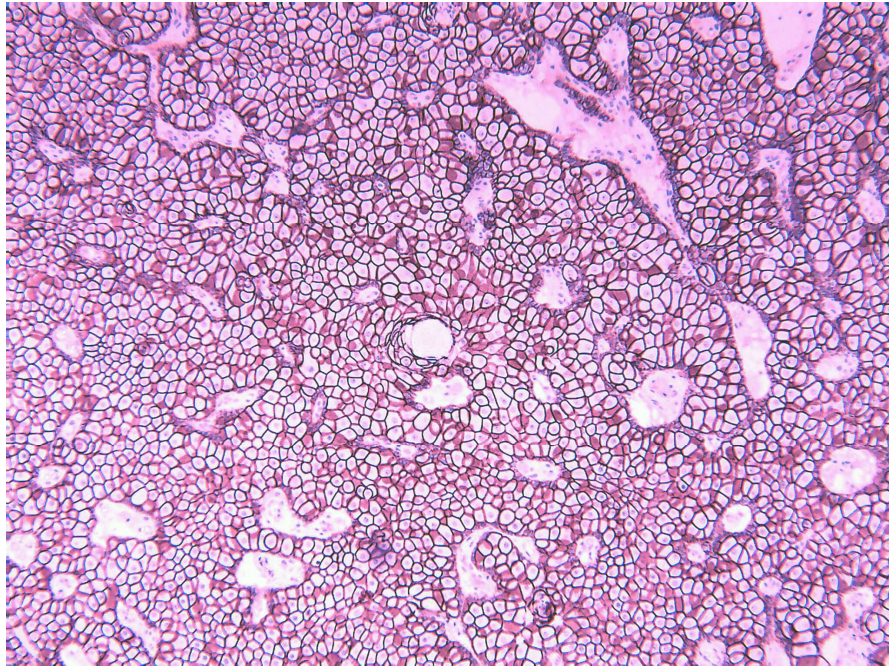
**25. ábra.** Az immunhisztokémiai felvétel baloldalán a felszíni hám suprabasalis rétegében, középen intact perianalis mirigylebenyekben, jobboldalon pedig a perianalis mirigy adenomában észlelhető intenzív, homogen, linearis E-cadherin pozitivitás, IHC., 40x (Külső pozitív kontrollok).



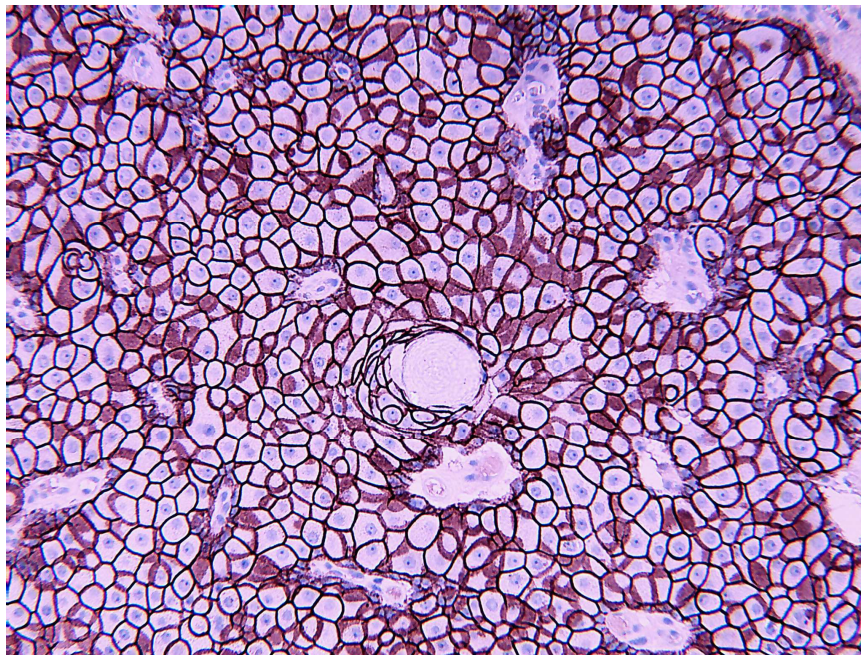
**26. ábra.** Intenzív, homogén, lineáris E-cadherin pozitivitás intact circumanal mirigylebenyékben, IHC., 100x (Külső pozitív kontroll).



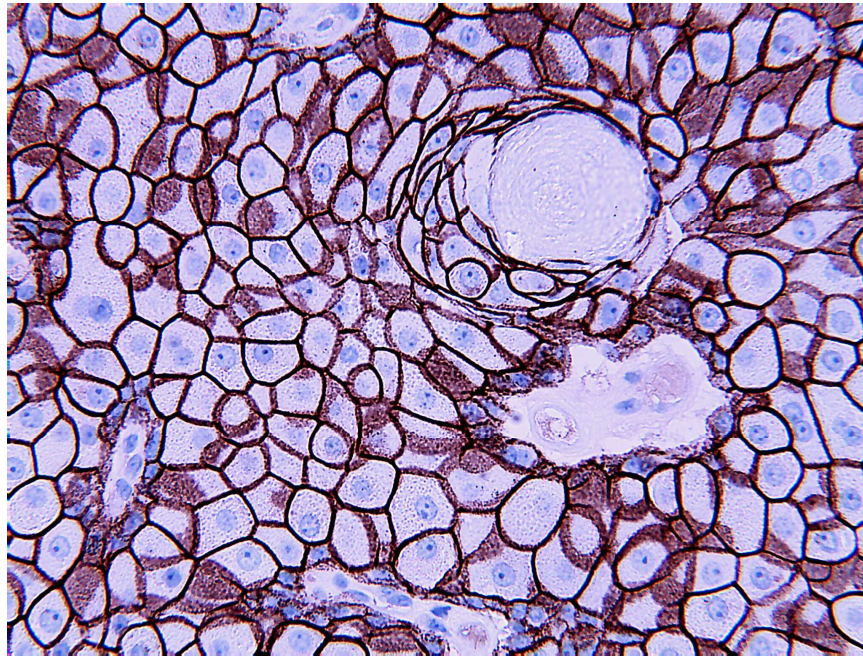
**27. ábra.** Intenzív, homogén, lineáris E-cadherin pozitivitás intact hepatoid-sejtes mirigylebenyékben, IHC., 200x (Külső pozitív kontroll).



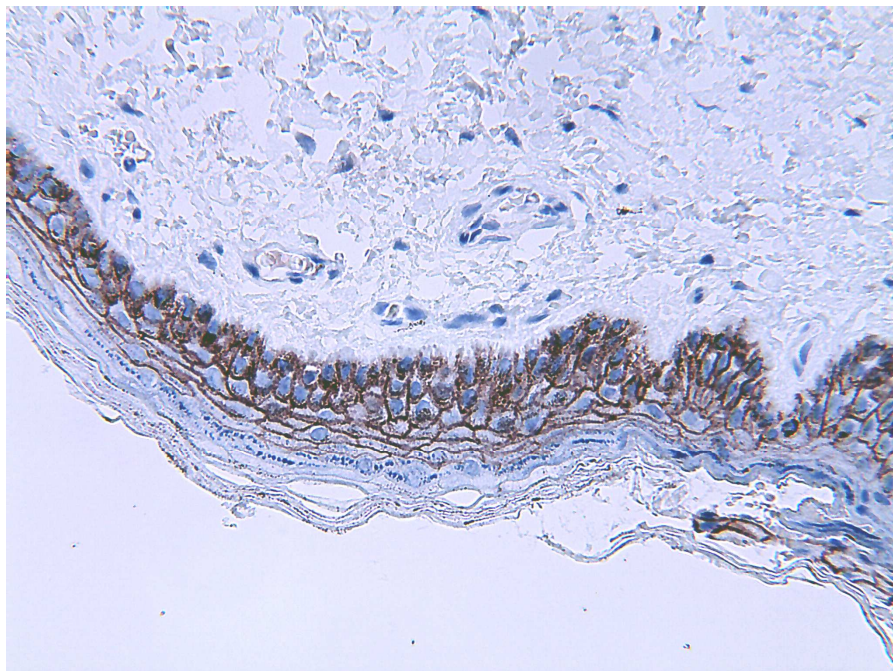
**28. ábra.** Intenzív, homogen, linearis E-cadherin pozitivitás hepatoid-sejtes adenomában, IHC., 40x (Külső pozitív kontroll).



**29. ábra.** Intenzív, homogen, linearis E-cadherin pozitivitás hepatoid-sejtes adenomában, IHC., 100x (Külső pozitív kontroll).



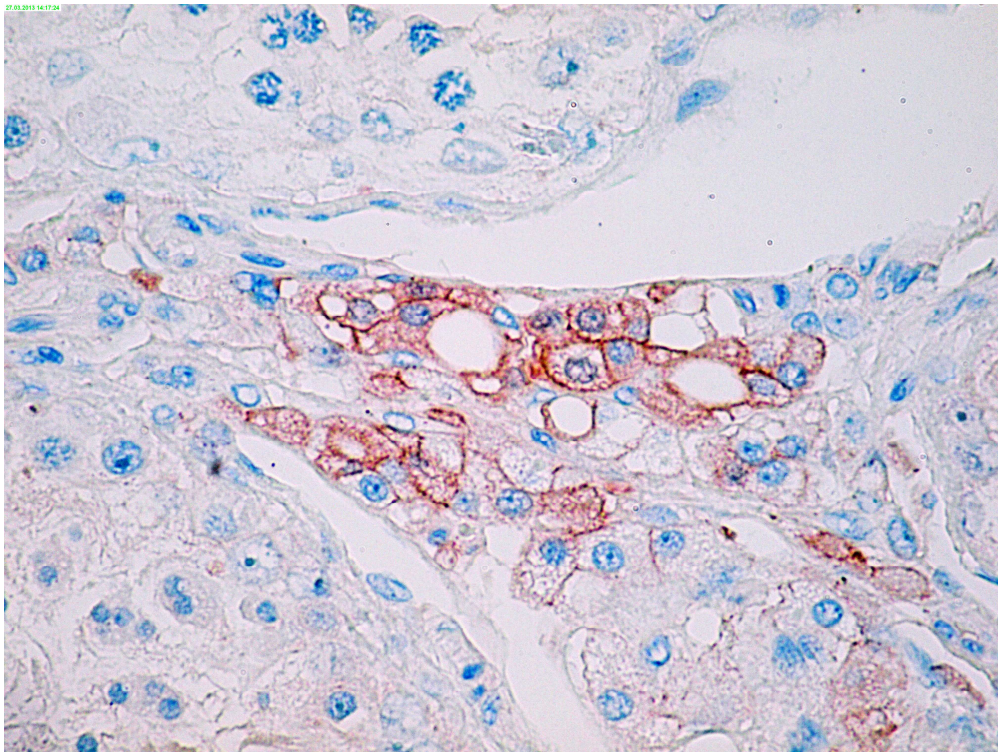
**30. ábra.** Intenzív, homogén, lineáris E-cadherin pozitivitás hepatoid-sejtes adenomában, IHC., 200x (Külső pozitív kontroll).



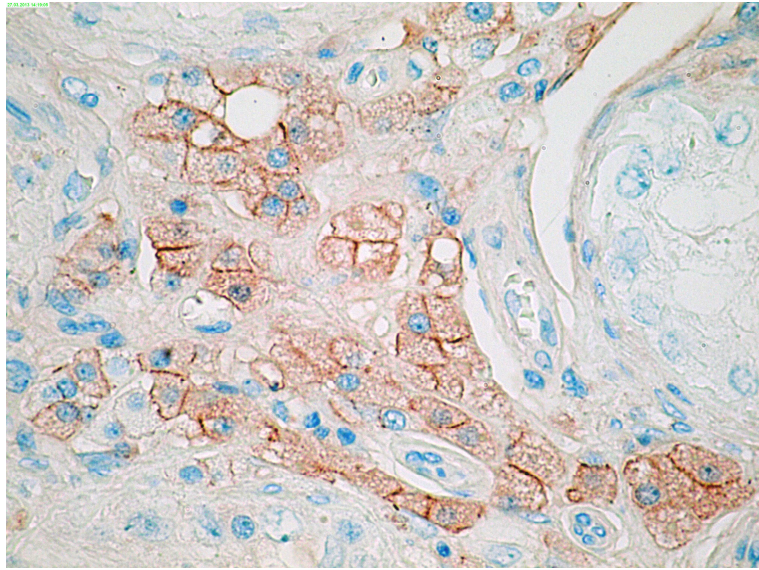
**31. ábra.** Intenzív, homogén, lineáris E-cadherin pozitivitás intact felszíni hámban, IHC., 200x (Külső pozitív kontroll).

### 3.5.3. Belső pozitív kontroll

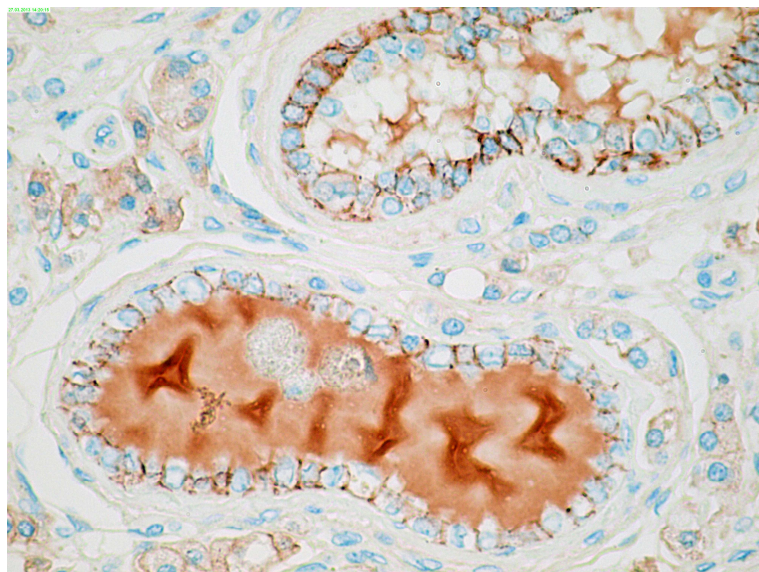
Belső pozitív kontrollként ép kutya herét használtunk, amelynek szövetében az intact Leydig- sejtek (32-33. ábrák), a rete testis (34. ábra) és a mellékherecső hámja (35. ábra) adott diffúz, homogén, intenzív, lineáris, membrán E-cadherin pozitivitást.



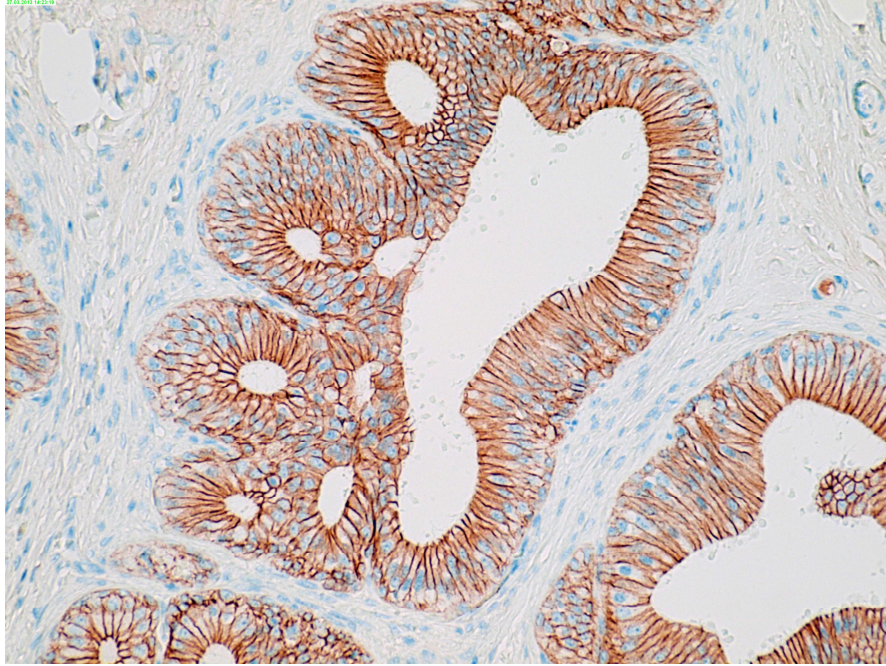
**32. ábra.** Intenzív, homogén, lineáris E-cadherin pozitívítás intact here interstitialis sejtekben, környezetében E-cadherin negatív Sertoli-sejtekkel és spermiocytogeneticus sejtekkel  
IHC., 400x (Belső pozitív kontroll).



**33. ábra.** Intenzív, homogén, lineáris E-cadherin pozitivitás intact here interstitialis sejtekben, környezetében E-cadherin negatív Sertoli-sejtekkel és spermiocytogeneticus sejtekkel IHC., 400x (Belső pozitív kontroll).



**34. ábra.** Intenzív, homogén, lineáris E-cadherin pozitivitás intact rete testis hámszövetekben sejtekben, környezetében E-cadherin pozitív Leydig-sejtekkel IHC., 400x (Belső pozitív kontroll).



**35. ábra.** Intenzív, homogen, linearis E-cadherin pozitivitás intact mellékherecső hámsejtekben, környezetében E-cadherin negatív kötőszöveti sejtekkel  
IHC., 200x (Belső pozitív kontroll).

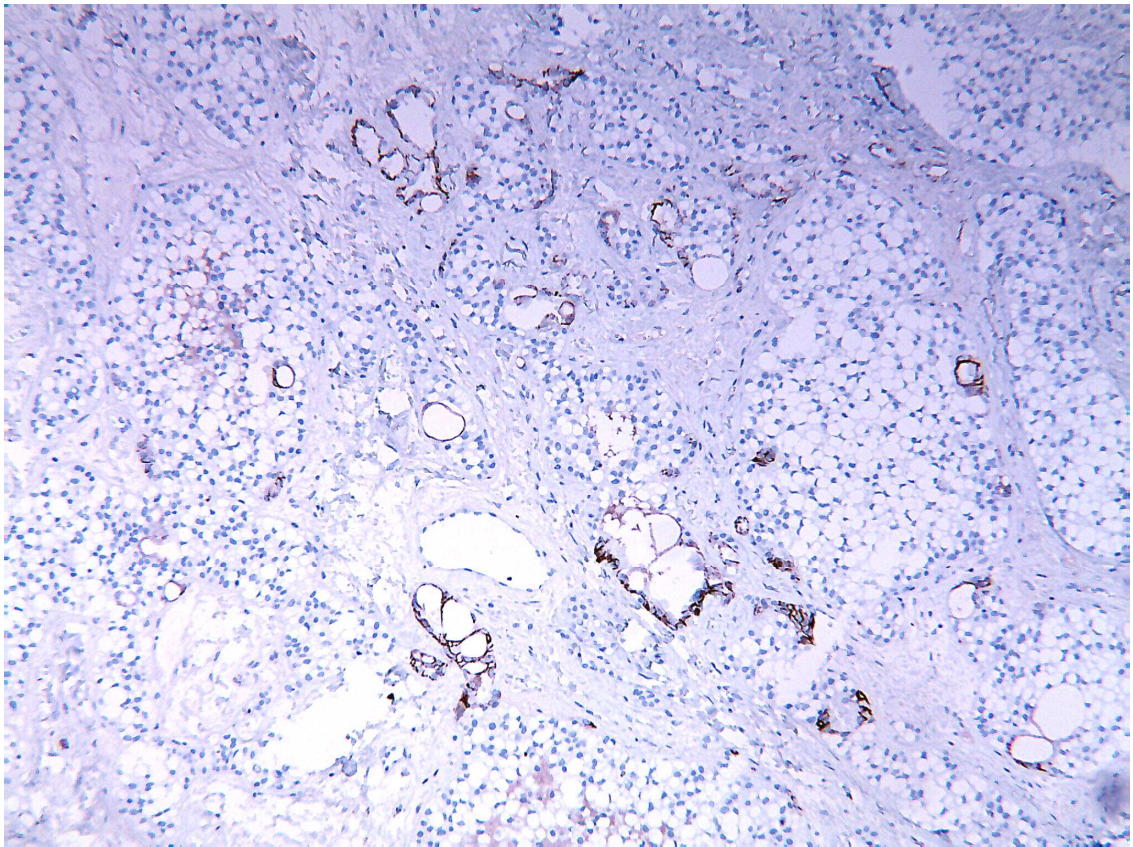
### **3.5.4. E-cadherin alapú immunhisztokémiai vizsgálatok**

Az általunk referenciának tekintett publikáció szerint<sup>1</sup> az ép here sejtjei közül a Leydig-sejtek mutattak E-cadherin pozitivitást, míg a daganatosan transzformált herében a neoplasticus Sertoli-sejtek intenzív, a herecsatornák germinatív sejtjei kevésbé intenzív pozitivitást mutattak és a daganatos Leydig-sejtek negatívak voltak az E-cadherin antitestekkel szemben.

Az általunk elvégzett indirekt immunhisztokémiai vizsgálatokkal a fenti publikáció eredményeit megerősítettük. Munkánk során azt tapasztaltuk, hogy Leydig-sejtes daganatok nem mutattak E-cadherin pozitivitást (**36-40. ábrák**), viszont a Sertoli-sejtes tumorok E-cadherin pozitívak voltak (**41-45. ábrák**).

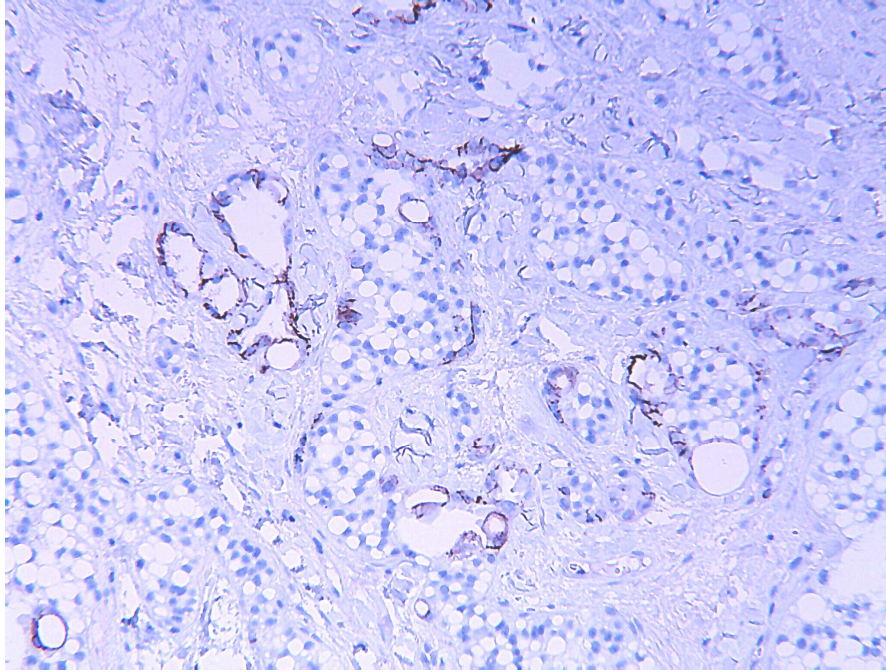


A fénymikroszkópos vizsgálatok során megvizsgált lipidizált Sertoli-sejtes és Leydig-sejtes heredaganatok H.-E. festett metszetekben, kifejezett, diffúz cytoplasmaticus lipidisatio esetén egyértelműen nem differenciálhatók el egymástól. Eredményeink felhívták a figyelmet arra, hogy ezekben az esetekben az anti-E-cadherin antitestre alapozott immunhisztokémiai vizsgálat nélkülözhetetlen a pontos histotipisálásban.

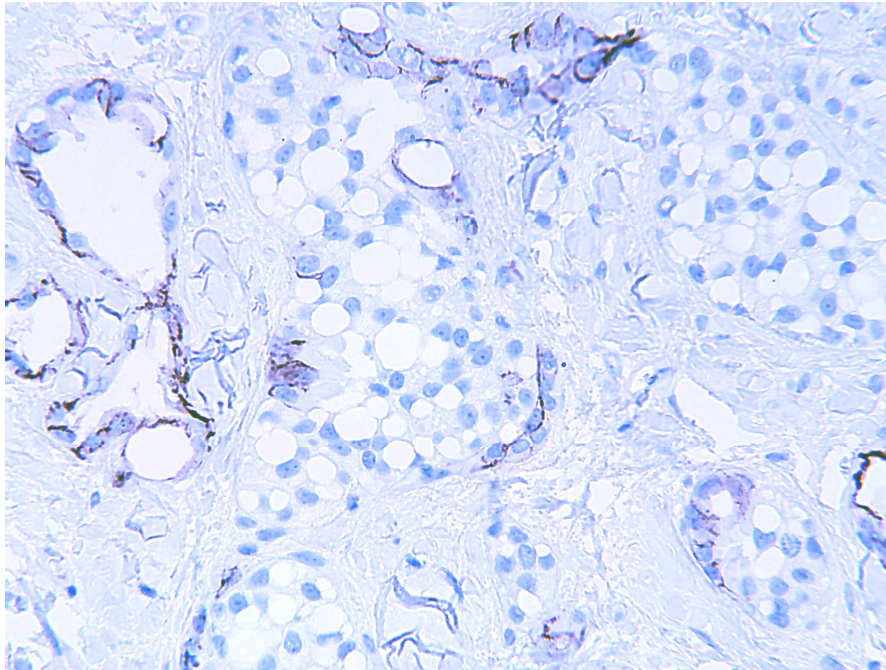


**36. ábra.** Az immunhisztokémiai felvételen jól kivehető E-cadherin pozitivitást mutató a rete testis hámsejtek (belső pozitív kontroll), és a környező szöveti területet infiltráló lipidizált, E-cadherin negatív

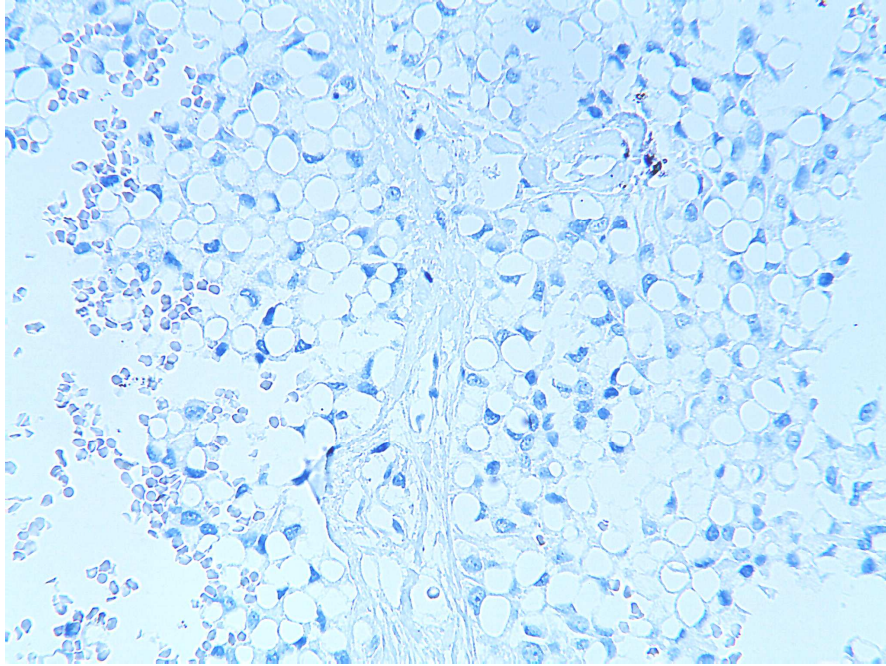
Leydig-sejtes daganat, IHC., 40x.



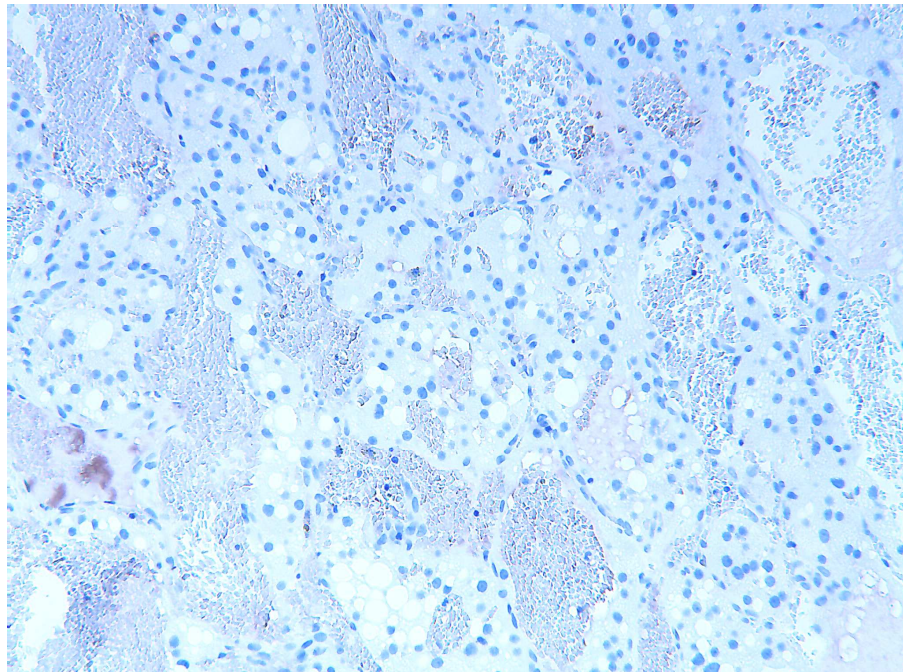
**37. ábra.** Nagyobb nagyítású felvétel, IHC., 100x.



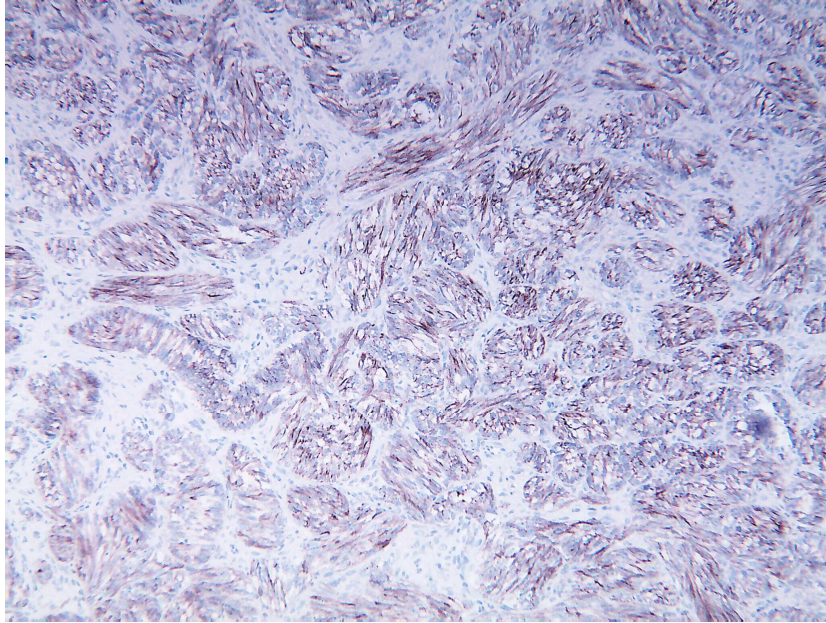
**38. ábra.** Nagyobb nagyítású felvétel, IHC., 200x.



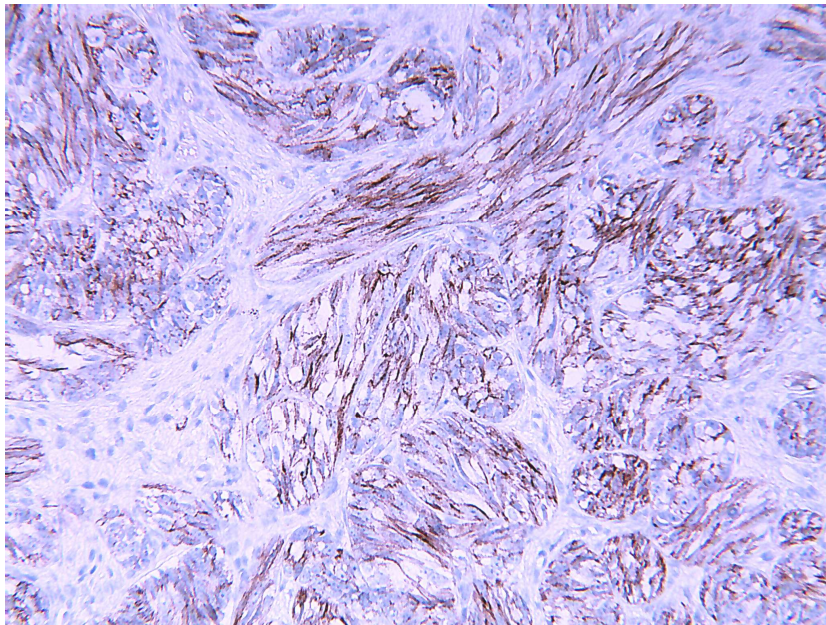
**39. ábra.** Solid, E-cadherin negatív lipidisalt Leydig-sejtes tumor, IHC., 200x.



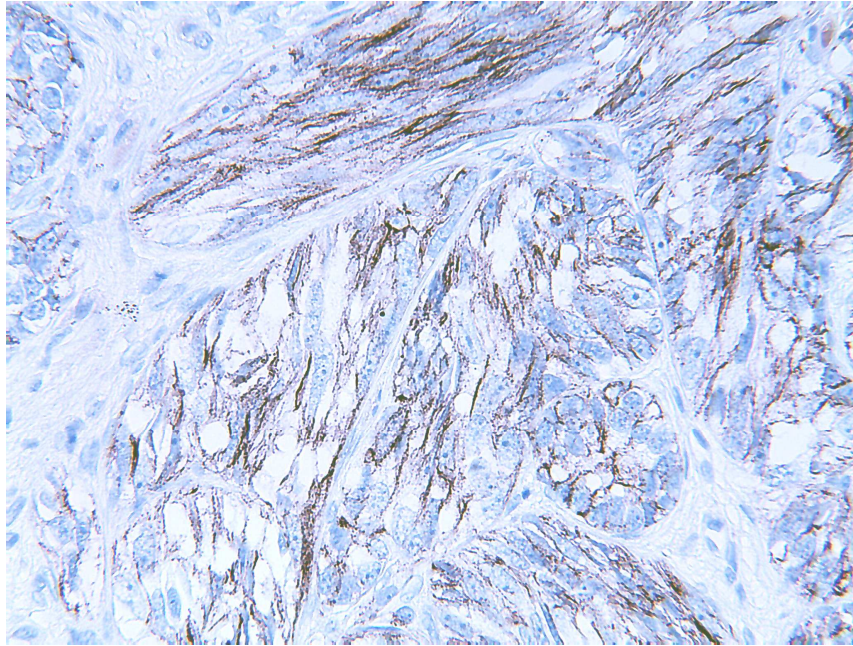
**40. ábra.** Cysticus-vascularis, E-cadherin negatív cysticus-vascularis Leydig-sejtes tumor,  
IHC., 200x.



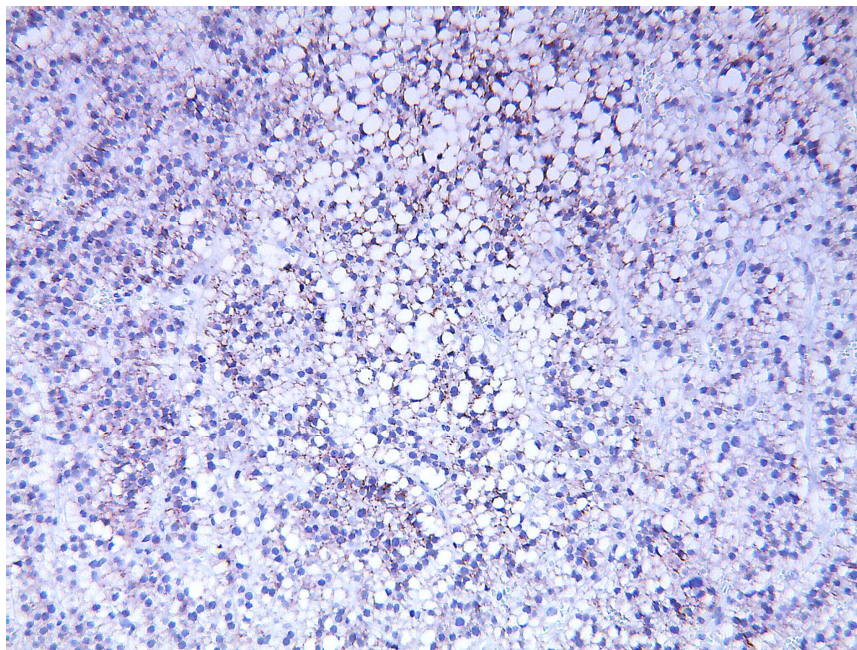
**41. ábra.** Diffúz, homogen, intenzív, lineáris E-cadherin pozitívítást mutató Sertoli-sejtes heretumor, IHC., 40x.



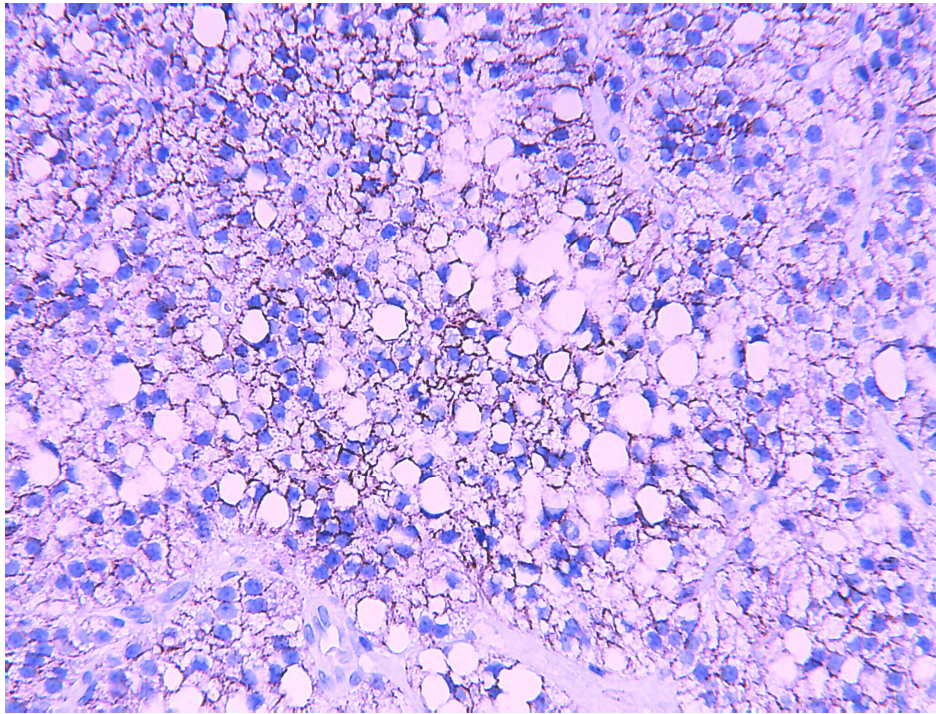
**42. ábra.** Nagyobb nagyítású felvétel, IHC., 100x.



**43. ábra.** Nagyobb nagyítású felvétel, IHC., 200x.

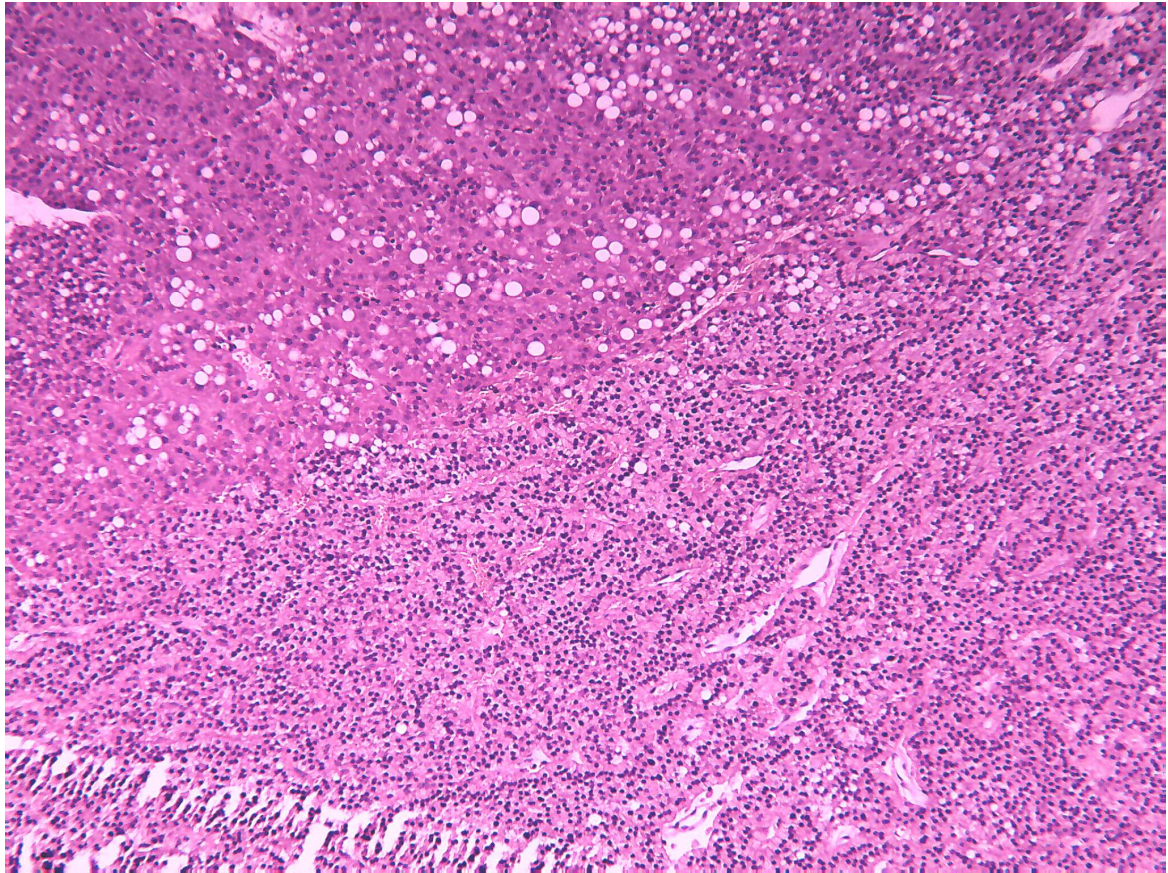


**44. ábra.** Diffúz, homogen, intenzív, lineáris E-cadherin pozitivitást mutató lipidisált Sertoli-sejtes heretumor, IHC., 40x.



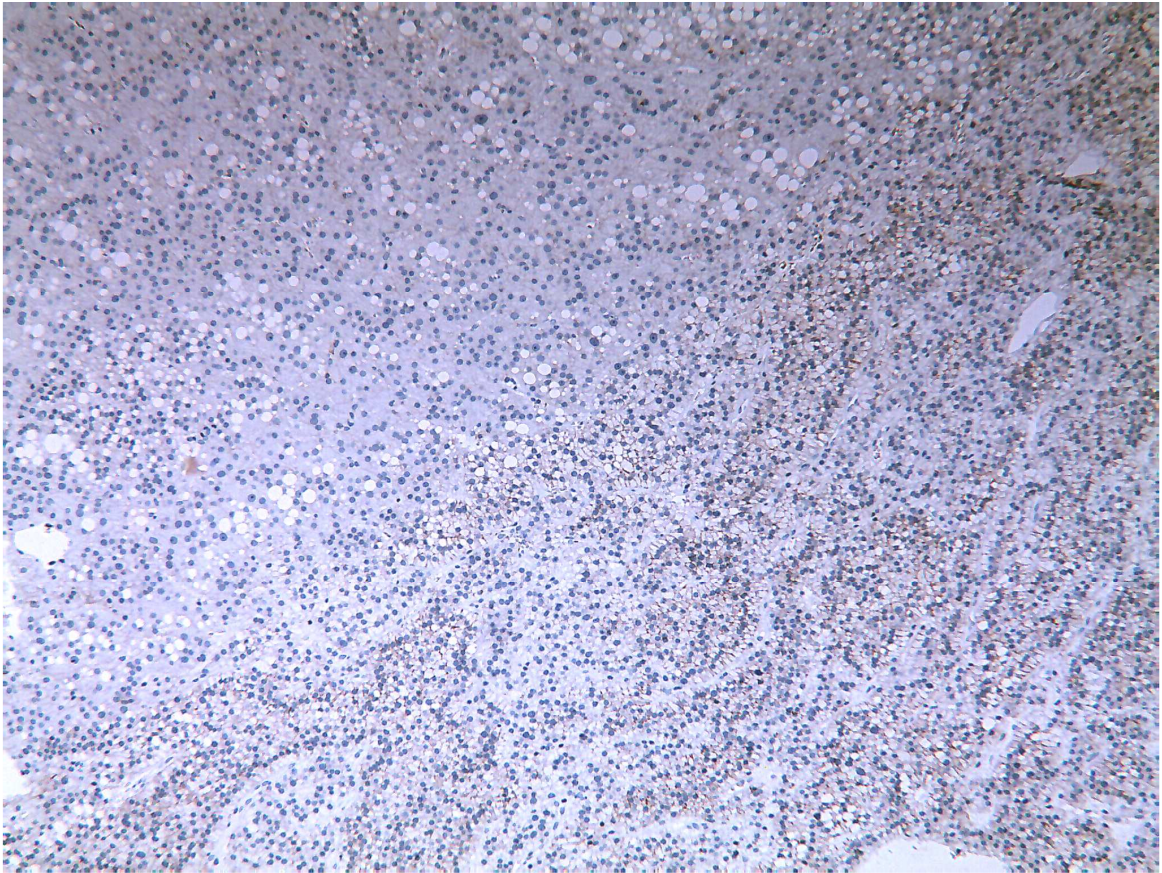
**45. ábra.** Nagyobb nagyítású felvétel, IHC., 100x.

A vizsgálataink során azt tapasztaltuk, H.-E. kórszöveti metszetek esetében a kutyák lipidisalt Leydig-sejtes és a lipidisalt Sertoli-sejtes heredaganatai elkülönítése nehézségekbe ütközik, a két daganattípus hasonló morfológiai jegyei miatt (**46., 48., 50. ábrák**). Ezt kompenzálón, az E-cadherin alapú immunhisztokémiai vizsgálatokkal egyértelműen elkülöníthető a két daganattípus, lehetővé téve a pontosabb definitív diagnózist, mind a vegyes és a mind az egy komponensű heredaganatokban (**47., 49., 51. ábrák**).



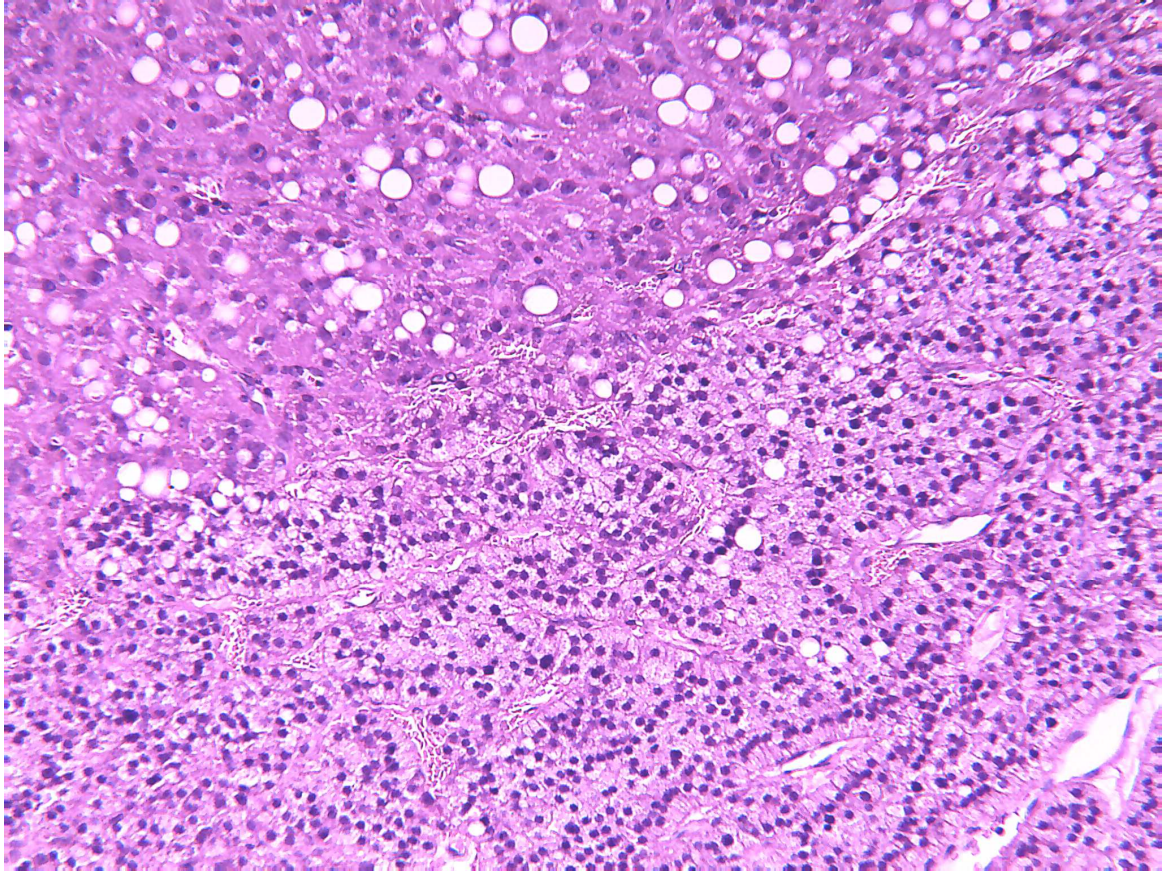
**46. ábra.** Malignus vegyes heretumor. Baloldalt lipidisalt Leydig-sejtes,  
jobbaldalt a lipidisalt Sertoli-sejtes daganat komponens.

Revideált metszet, H.-E., 40x.

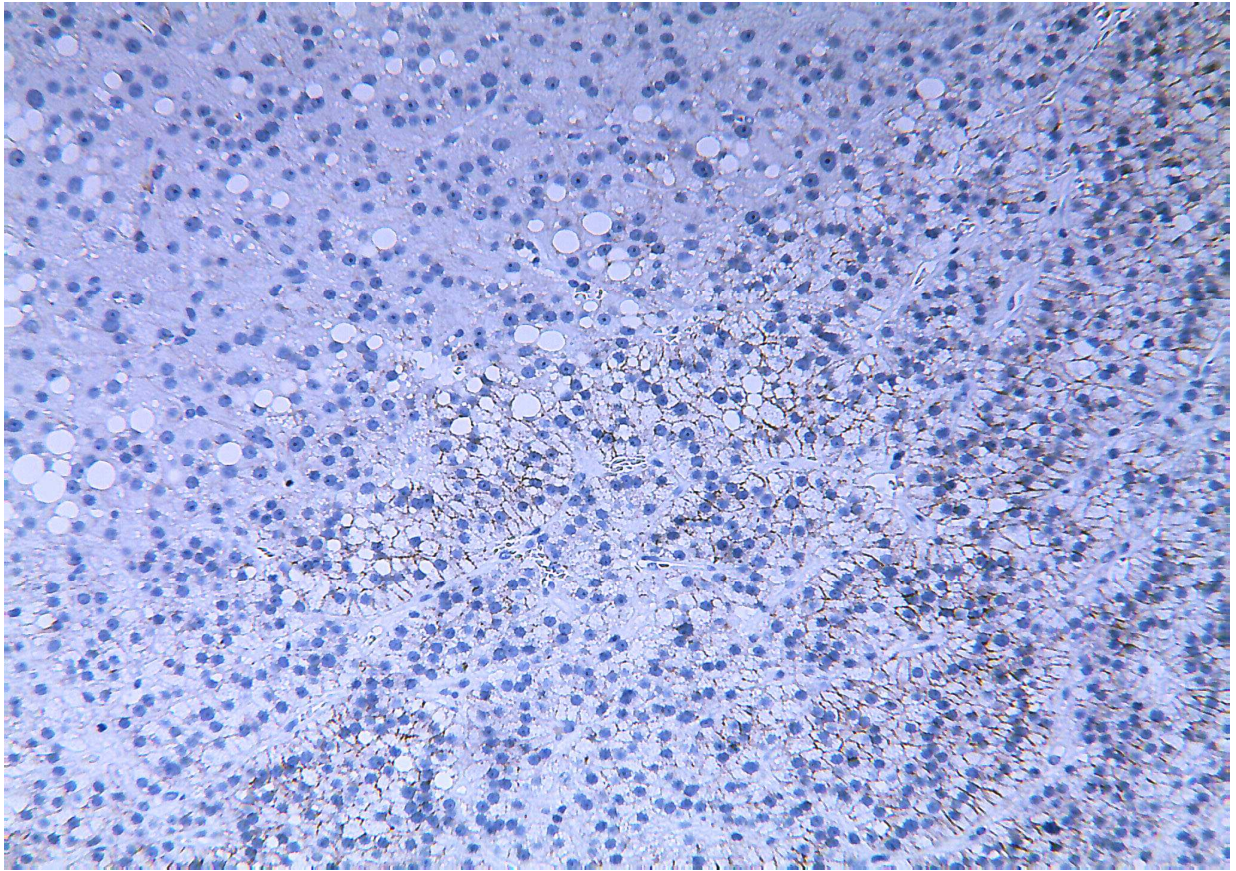


**47. ábra.** Malignus vegyes heretumor. Baloldalt lipidisalt E-cadherin negatív Leydig-sejtes, jobboldalt a lipidisalt E-cadherin pozitív Sertoli-sejtes daganat komponens, IHC., 40x.

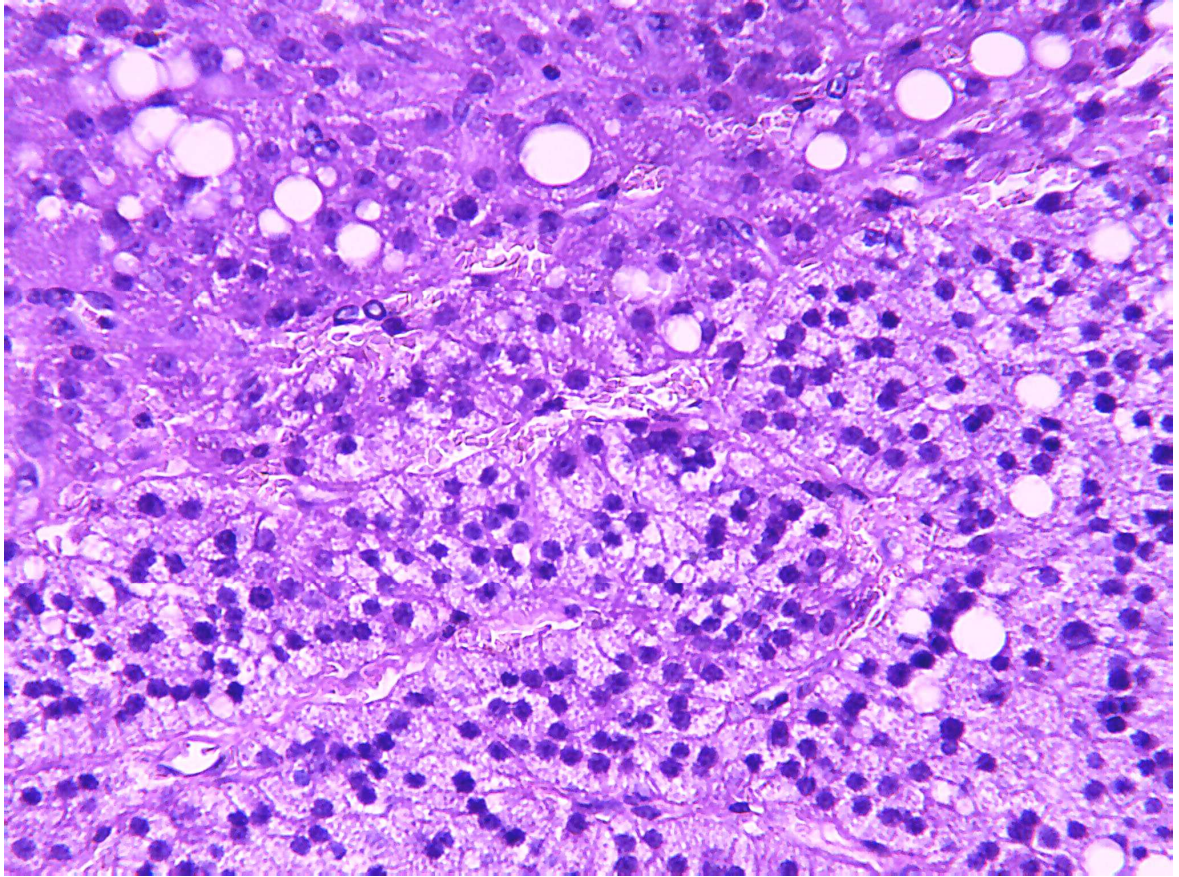




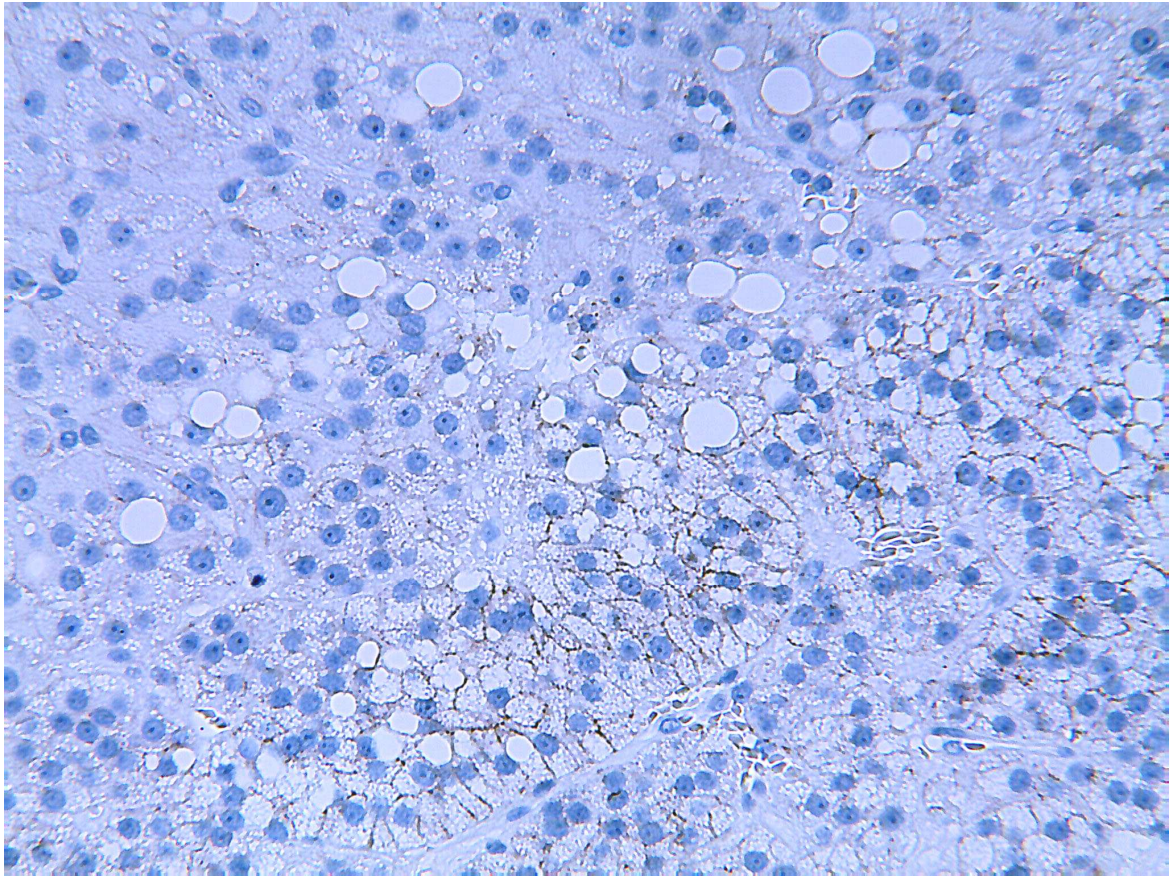
**48. ábra.** Malignus vegyes heretumor. Baloldalt lipidisalt Leydig-sejtes, jobboldalt a lipidisalt Sertoli-sejtes daganat komponens. Revideált metszet, H.-E., 100x.



**49. ábra.** Malignus vegyes heretumor. Baloldalt lipidisalt E-cadherin negatív Leydig-sejtes, jobboldalt a lipidisalt E-cadherin pozitív Sertoli-sejtes daganat komponens, IHC., 100x.



**50. ábra.** Malignus vegyes heretumor. Baloldalt lipidisalt Leydig-sejtes, jobboldalt a lipidisalt Sertoli-sejtes daganat komponens. Revideált metszet, H.-E., 200x.



**51. ábra.** Malignus vegyes heretumor. Baloldalt lipidisalt E-cadherin negatív Leydig-sejtes, jobboldalt a lipidisalt E-cadherin pozitív Sertoli-sejtes daganat komponens, IHC., 200x.

## 4. Következtetések és összefoglalás

Retrospektív patológiai incidencia vizsgálataink során, a megvizsgált 147, kutya heredaganatos biopátumon belül, az esetek 53%-ában malignus seminomát, 40%-ában Leydig-sejtes tumort és 14%-ában Sertoli-sejtes daganatot figyeltünk meg. Elenyésző százalékban tapasztaltunk vegyes heredaganatot. Incidencia vizsgálati eredményük, a valóságot megközelítően tükröző biológiai tényként fogadható el, hiszen a hazánkban működő állatorvosi rendelőkben, a kutyák heredaganatos eseteiben végzett, castratio/tumorectomia során nem mindig igénylik a minták patológiai-diagnosztikai feldolgozását, valamint Tanszékünkön kívül léteznek egyéb állatorvosi patológia laboratóriumok. Ritkábban az állatorvos kollégák human patológiai osztályok munkáját veszik igénybe, ami nem javasolt szakmai szempontból.

Az incidenciam vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a kutyák 9-12 éves korosztálya a leginkább veszélyeztetett korosztály a heredaganatok kialakulása szempontjából. A heretumorok kialakulásának időpontja, vizsgálati eredményeink alapján, már a 6-7 éves korban is várható, ezért javasoljuk a gyors és megbízható szűrővizsgálatokra (secundaer preventióra) alkalmas UH-vizsgálatot ettől a kortól.

A munkánk során azt figyeltük meg, hogy a predisponált fajták a következők: németjuhász, uszkárok, yorkshire terrier.

Gyakorlati szempontból a mai kisállatpraxisban mindenképpen fontos a daganatosan elváltozott herék, mellékherék és egyéb infiltrált szövetek műtéti eltávolítása függetlenül a daganat típusától, ezáltal a hyperoestrogenismus tünetei (Sertoli-sejtes daganatok esetében és áttétek hiányában) és az áttétképződés esélye, valamint a daganat okozta szöveti kompresszió, a kisebbedés/kifekélyesedés és az azt követő fertőzések kialakulása is megszüntethető.

Az immunhisztokémiai vizsgálatok eredménye alapján látható, hogy a pontos definitív diagnózis felállításához ma már elengedhetetlenül fontos az E-cadherin alapú immunhisztokémiai

vizsgálat a lipidisált Leydig-sejtes és Sertoli-sejtes daganatok elkülönítésében, mivel a két daganattípus hasonló morfológiai jegyekkel rendelkezik. A H.-E. festett metszetek alapján a seminomák könnyen elkülöníthetők a Leydig-sejtes és Sertoli-sejtes daganatoktól, valamint az E-cadherin alapú immunhisztokémiai vizsgálatokkal a Leydig-sejtes és Sertoli-sejtes daganatok is könnyen elkülöníthetők, így a heréket érintő három leggyakoribb daganattípust biztosan elválaszthatjuk egymástól.

Vizsgálataink alapján javasolt az E-cadherin alapú indirekt immunhisztokémiai vizsgálat, a kutyák heredaganatainak gyakorlati patológiai diagnosztikai elemzése során. Segítségével megbízható diagnózis állítható fel, amely egzakt alapot ad a különböző felmérésekhez, kutatásokhoz, comparativ elemzésekhez. A kutyák intact Leydig-sejtjeiben észlelt E-cadherin pozitívitás, valamint a Leydig-sejtes tumorokban tapasztalt negatívitás, azaz E-cadherin expresszió elvesztése a tumorigenesishez ad biológiai kutatási alapot. Ennek korrekt elemzéséhez további molekuláris, oncogenomikai vizsgálatokra van szükség. További patobiológiai érdekessége a folyamatnak, hogy a benignus Leydig-sejtes daganatok már mutatják az E-cadherin expresszió elvesztését. A Sertoli-sejtes heredaganatok esetében ellentétes molekuláris folyamatot észleltünk. A kutyák elváltozásmentes Sertoli-sejtjei nem, a daganatos elváltozásai viszont expresszálták az E-cadherin molekulát. Egy szövetben kialakult két különböző sejteredetű daganat, két különböző immunreaktivitást, ill. immunreaktivitás változást mutatott a tumorigenesis során. Megfigyelésünk a daganatok kifejezett polymorphiájára hívja fel a figyelmet, valamint alapot ad további molekuláris vizsgálatokhoz, amelyek révén egy molekuláris targetálási elven működő, anti-tumor terápiát alapozhatnak meg a jövőben. Ennek kidolgozása elsősorban a kutyák heredaganat áttéteinek kezelésében lenne jelentőségteljes.

## 5. Summary

Incidental research of canine testicular tumors and E-cadherine based immunohistochemical research of canine interstitial and Sertoli cell tumors

The first goal of my thesis was to describe an incidental overlook of canine testicular tumors based on the samples of the Department of Pathology and Forensic Veterinary Medicine. According to the 147 samples I collected from the department I got to the following conclusions: the most compromised age of testicular tumors among dogs was between the age of 9 and 12 years as well as the most emphasized breeds in connection with testicular tumors were the german shepherd hound, the yorkshire terrier, the poodle and mixed breed dogs. According to my research the most common testicular tumors were seminomas (53,06%), the second most common were interstitial cell tumors (40,14%) and the third most common were Sertoli cell tumors (14,28%).

The second part of my thesis is about the E-cadherine based immunohistochemical differentiation of interstitial and Sertoli cell tumors. The base of differentiation is the different E-cadherine based immunohistochemical staining of the two tumor types. According to the results of our research interstitial cell tumors don't show any reaction to E-cadherine antibodies while Sertoli cell tumors show significant immunohistochemical staining. Slides with hematoxillin-eosin staining can be confusing in the differentiation of interstitial cell tumors and Sertoli cell tumors because of the similar morphological presence. As a result of our research we found that only interstitial cells show E-cadherin positivity in intact testicles however the cells of interstitial cell tumors show no reaction and the cells of Sertoli cell tumors show significant immunohistochemical staining. Due to this we can easily separate interstitial cell tumors from Sertoli cell tumors in confusing cases. Seminomas can be mostly easily separated from the other two common tumor types according to hematoxillin-eosin based stainings as well as they show minimal positivity to E-cadherine immunostaining so with E-cadherine antibodies and with a simple HE staining the three most common testicular tumor types can be differentiated in most

cases. Owing to our results we can confirm the publication of Dr. J. A. Ramos-Vara and Dr. M. A. Owston<sup>1</sup> who received the same results and therefore we suggest the use of E-cadherin in creating the correct, definitive diagnosis of testicular tumors.

## 6. Irodalom jegyzék

---

<sup>1</sup> M. A. Owston and J. A. Ramos-Vara: Histologic and Immunohistochemical Characterisation of a Testicular Mixed Germ Cell Sex Cord-Stromal Tumor and a Leydig Cell Tumor in a Dog. *Vet Pathol*, 2007. 44.6. p. 936-943.

<sup>2</sup> N.J. MacLachlan and P.C. Kennedy: Tumors of the genital systems. In: Donald J. Meuten: Tumors in domestic animals, 4th edition. Iowa State USA, Iowa State Press, 2002. p. 561-567.

<sup>3</sup> Grieco V, Riccardi E, Greppi GF, Teruzzi F, Iermanò V, Finazzi M.: Canine testicular tumours: a study on 232 dogs. *J Comp Pathol*, 2008. 138.2-3. p. 86-89.

<sup>4</sup> Ortega-Pacheco A, Rodríguez-Buenfil JC, Segura-Correa JC, Bolio-Gonzalez ME, Jiménez-Coello M, Linde Forsberg C.: Pathological conditions of the reproductive organs of male stray dogs in the tropics: prevalence, risk factors, morphological findings and testosterone concentrations. *Reprod Domes Anim*, 2006. 41.5. p. 429-37.

<sup>5</sup> Doxsee AL, Yager JA, Best SJ, Foster RA.: Extratesticular interstitial and Sertoli cell tumors in previously neutered dogs and cats: a report of 17 cases. *Can Vet J*, 2006. 47.8. p. 763-66.

<sup>6</sup> Almén MS, Nordström KJ, Fredriksson R, Schiöth HB.: Mapping the human membrane proteome: a majority of the human membrane proteins can be classified according to function and evolutionary origin. *BMC Biol*, 2009. 13.7. p. 50.

---



- 
- <sup>7</sup> Stefan Offermanns, Walter Rosenthal: Encyclopedia of Molecular Pharmacology, 2nd edition. Springer, 2008. p. 306-.
- <sup>8</sup> Bello SM, Millo H, Rajebhosale M, Price SR.: Catenin-dependent cadherin function drives divisional segregation of spinal motor neurons. *J Neurosci*, 2012. 32. 2. p. 490-505.
- <sup>9</sup> Harris TJ, Tepass U.: Adherens junctions: from molecules to morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010. 11.7. p. 502-14.
- <sup>10</sup> Gumbiner BM.: Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005. 6. 8. p. 622-34.
- <sup>11</sup> Tepass U, Truong K, Godt D, Ikura M, Peifer M.: Cadherins in embryonic and neural morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000 . 1. 2. p. 91-100.
- <sup>12</sup> Huntsman DG, Caldas C.: Assignment1 of the E-cadherin gene (CDH1) to chromosome 16q22.1 by radiation hybrid mapping. *Cytogenet Cell Genet*, 1998. 83. 1-2. p. 82-3.
- <sup>13</sup> Semb H, Christofori G.: The tumor-suppressor function of E-cadherin. *Am J Hum Genet*, 1998. 63. 6. p. 1588-93.
- <sup>14</sup> Wong AS, Gumbiner BM.: Adhesion-independent mechanism for suppression of tumor cell invasion by E-cadherin. *J Cell Biol*, 2003. 161. 6. p. 1191-203.
- <sup>15</sup> Robert Weinberg: *The Biology of Cancer*. Garland Science, 2006. p. 864 pages.
- <sup>16</sup> Polyak K, Weinberg RA.: Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer*, 2009. 9. 4. p. 265-73.

---

<sup>17</sup> Byers SW, Sujarit S, Jegou B, Butz S, Hoschutzky H, Herrenknecht K, MacCalman C, Blaschuk OW.: Cadherins and cadherin-associated molecules in the developing and maturing rat testis. *Endocrinology*, 1994. 134. 2. p. 630-9.

<sup>18</sup> E. N. Tolkunova, A. B. Malashicheva, E. V. Chikhirzhina, E. I. Kostyleva, W. Zeng, J. Luo, I. Dobrinski, A. Hierholzer, R. Kemler, A. N. Tomilin: E-Cadherin as a Novel surface Marker of Spermatogonial Stem Cells. *Cell and Tissue Biology*, 2009. 3. 2. p. 103–109.

<sup>19</sup> Mackay S, Nicholson CL, Lewis SP, Brittan M.: E-cadherin in the developing mouse gonad. *Anat Embryol (Berl)*, 1999. 200. 1. p. 91-102.

<sup>20</sup> Bremmer F, Schweyer S, Martin-Ortega M, Hemmerlein B, Strauss A, Radzun HJ, Behnes CL.: Switch of cadherin expression as a diagnostic tool for Leydig cell tumours. *APMIS*, 2013. doi: 10.1111/apm.12053.

<sup>21</sup> Honecker F, Kersemaekers AM, Molier M, Van Weeren PC, Stoop H, De Krijger RR, Wolffenbuttel KP, Oosterhuis W, Bokemeyer C, Looijenga LH.: Involvement of E-cadherin and beta-catenin in germ cell tumours and in normal male fetal germ cell development. *J Pathol*, 2004. 204. 2. p. 167-74.

## Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek Dr. Jakab Csabának a szakdolgozat megírásához és a különböző vizsgálatokhoz szükséges elméleti és gyakorlati ismeretek átadása és a vizsgálatokhoz szükséges feltételek biztosítása miatt, Pop Renátának a vizsgálatokhoz szükséges metszetek készítéséért, valamint Szilágyi Lászlónak a szakdolgozat formázásában nyújtott segítségével.