

Válasz Prof. Somfay Attila opponensi bírálatára és kérdéseire

Szeretném megköszönni Somfay Attila Professzor Úrnak a disszertációm gondos áttanulmányozását. Köszönöm az elismerő szavakat, és külön köszönöm, hogy a feltett 18 kérdéssel lehetőséget adott számomra vizsgálati eredményeink részletesebb kifejtésére, illetve azok továbbgondolására.

Kérdéseire az alábbi válaszokat kívánom adni:

- 1. A Bevezetés fejezetben említi, hogy hazánkban a tüdőrák diagnózisa több mint 60%-ban citológiai mintán alapul. Elegendő-e ma a citológia a pontos patológiai diagnózishoz és recidíva vagy progresszió esetén a későbbi összehasonlító elemzésekhez?*

Pusztán a tüdőrák diagnózisának felállításához az esetek döntő többségében elegendő a citológiai minta, hiszen, ha az megfelelően sejtdús, akkor számos immuncitokémiai vizsgálat elvégezhető rajta, amelyek segítenek megválaszolni fontos differenciáldiagnosztikai kérdéseket. Nehézséget főként az jelent, ha a minta kevés daganatsejtet tartalmaz, ami leginkább a perifériás tüdőrákok transthoracalis tűbiopsziája esetén merül fel. Ezt a diagnosztikus módszert egyesek „one slide smear” technikának is nevezik, utalván arra, hogy nemritkán mindössze egyetlen kenet készítésére van lehetőség. Ilyen esetben pl. az ALK meghatározás már veszélybe kerülhet, hiszen az ALK–FISH vizsgálatra az adenocarcinoma diagnózisának felállítása után kerül sor, és feltétele legalább 100 daganatsejt jelenléte. A citológiai mintának ugyanakkor lehet olyan előnye, hogy mivel nem tartalmaz formalint, ami DNS keresztkötéseket hozhat létre, így egyes esetekben a molekuláris analízis könnyebben elvégezhető belőle. Ami az immunterápia indikálásához szükséges PD-L1 meghatározást illeti, a PD-L1 fehérje expressziója kimutatható lehet a daganatsejtekben, valamint a daganatot infiltráló T limfocitákban és más immunsejtekben. Amennyiben csak citológiai minta áll rendelkezésre, úgy a tumor stromában esetleg fellelhető PD-L1 pozitív immunsejtek nem kerülnek látótérbe, így – amennyiben a tumorsejtek PD-L1 negatívak – a beteg eleshet egy reménytelen onkoterápiától. Emellett a tüdőrák ismertén egy heterogén tumor, így egy – kevés sejtet tartalmazó – citológiai minta PD-L1-expressziója nem reprezentálja kellőképpen az egész daganatot. Sajnálatos módon, jelenleg a hivatalos szakmai ajánlások nem fogadják el a citológiai mintán történő PD-L1 meghatározást, ami azért is aggályos, mivel maga az immunreakció elvégezhető sejteken is, és pl. egy 50% feletti pozitivitási arány esetén lemondani egy pembrolizumab terápiáról igencsak elgondolkodtató. A klinikai gyakorlatban egy fontos kérdés a mellkasi folyadékok citológiai mintája, hiszen ebben az esetben centrifugálást követően lehetőség nyílik paraffinos sejtblokk kialakítására, ami már sorozat-metszetek készítésére is alkalmas, így átmenetet képez a citológiai és a hisztológiai preparátumok között.

2. Szintén a bevezetőben említi, hogy az NSCLC mellett számos más solid tumorban – így tripla-negatív emlőrákban, petefészekrákban, gyomorrákban – is kimutatható az EGFR gén mutációja. Van-e különbség a TKI kezelés hatékonyságában (PFS, OS) ezen esetekben a különböző szervi eredetek között? Igazolható-e az a hipotézis, hogy nem a szervi-szövettani típus, hanem a molekulárgenetikai diagnózis alapján kell a célzott terápiát alkalmazni?

Emlőrákban az EGFR mutáció lényegesen ritkább, mint tüdőrákban, azonban a tripla-negatív alcsoportban már 11,4%-ra emelkedik a gyakorisága, és ennek fele exon 19 deléció [Teng, *Breast Cancer Res*, 2011]. Meglepő módon ugyanakkor a szakirodalomban csak alig található – és igen alacsony esetszámmal – gefitinib terápiára vonatkozó vizsgálat emlőrákban, ráadásul a szer alkalmazását nem kötötték EGFR szenzitizáló mutáció pozitivitáshoz. Petefészekrákban ugyancsak kimutatható EGFR mutáció, azonban gyakorisága messze elmarad a tüdőrákétól, mindössze <1% [Murphy, *Drug Resistance Update*, 2011]. A fellelhető tanulmányok döntően EGFR immunhisztokémiát alkalmaztak az EGFR-TKI hatásának elemzésekor, ami nyilván megkérdőjelezhető, mivel az immunreakció az EGFR extracelluláris doménjét detektálja, a tirozinkináz régió pedig transzmembrán lokalizációjú. Gyomorrákban Liu és mtsai 58 tumormintából háromban detektáltak EGFR missense mutációt 2011-ben, azóta ilyen irányú, nagyobb beteglétszámú vizsgálatról nem közöltek eredményeket [Liu, *Pathology*, 2011]. Összességében elmondható, hogy nagy beteglétszámú, beválasztási kritériumként EGFR mutáció pozitív daganatot megjelölő, randomizált klinikai vizsgálat EGFR-TKI-val sem emlőrákban vagy petefészekrákban, sem pedig gyomorrákban nem történt.

A molekuláris genetikai eredmény alapján indikált onkoterápia – a tumor-agnosztikus kezelési mód – az elmúlt években került a figyelem középpontjába. Elsőként 2017 májusában törzskönyvezte az FDA a pembrolizumabot a magas MSI (mikroszatellita instabilitás) értéket mutató daganatok kezelésére, függetlenül azok szervi lokalizációjától. Egy másik forradalmi terápiás megközelítés az NTRK (Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase) génfúzió pozitív daganatok esetében alkalmazható entrectinib vagy larotrectinib. Az NTRK géneltérés rendkívül ritka, évente összesen kb. 20 esettel számolhatunk hazánkban. Jelentőségét fokozza azonban, hogy előfordul gyermekkori malignus daganatokban, továbbá, hogy megletekor 40%-ban alakul ki agyi áttét. Az eddigi legátfogóbb vizsgálat során entrectinibbel 57%-os objektív terápiás választ, és 50%-os cerebrális terápiás választ igazoltak [Doebele, *Lancet Oncol*, 2020].

Az agnosztikus terápiás megközelítés várhatóan a citotoxikus terápiák esetében is szerephez fog jutni, így például függetlenül a primer tumor szervi lokalizációjától, BRCA1/2 mutáció megléte PARP-inhibitor kezelés indikációjául szolgálhat majd számos daganattípusban, így akár tüdőrákban is.

3. A 13. oldalon kedvező prognosztikus faktorként említi a topoizomeráz II enzim magasabb szintjét, mivel az fokozza a DNS hibajavítást. Ugyanakkor kissejtes tüdőrákban a topoizomeráz II gátló etoposid a rutin terápia része. Hogyan oldható fel ez az ellentmondás?

Nagyon köszönöm Professzor Úrnak ezt a kérdést, mert ez rávilágít a citotoxikus kemoterápiák predikciójának nehézségeire és annak komplex voltára. A Topo-II (topoizomeráz II) enzim a DNS hibajavító enzimes család része, és így módon, a daganatban csökkentheti azon genetikai elváltozásokat, amelyek a daganat agresszívabb biológiai viselkedése révén rontják a prognózist. Gao és mtsai 490 colorectalis carcinomában a Topo-II α kedvező prognosztikai szerepét igazolták [Gao, *Int J Colorectal Dis*, 2012]. Amikor azonban a daganatot pusztítani szeretnénk, akkor éppen az a cél, hogy az általunk a citotoxikus kemoterápiával kiváltott DNS károsodást ne javítsa ki DNS repair enzim, hanem a daganatsejtek a felgyülemlett génhiba miatt elpusztuljanak. Így módon a daganatban meglévő magasabb Topo-II szint pl. etoposiddal történő gátlása esetén kedvezőbb terápiás hatást érhetünk el, így végeredményben a magas enzimszint – amennyiben terápiás gátlására van lehetőség – kedvező prediktív faktor is lehet. Ez igazolódott 364 emlőrákos beteg vizsgálata során is, ahol a magas Topo-II α protein expresszió kedvező prognosztikai és prediktív faktornak bizonyult [Yao, *Int J Clin Exp Pathol*, 2017]. A kérdés komplexitására ugyanakkor jól rávilágít az alábbi két tanulmány. Kissejtes tüdőrákos betegek vizsgálata során a magas Topo-II expressziós szint kedvező túléléssel társult Topo-II-gátló amrubicin kezelés mellett [Miura, *Lung Cancer*, 2018]. Ugyanez a munkacsoport azonban két évvel később nem-kissejtes tüdőrákos betegek amrubicin kezelését elemezte, és azt találta, hogy az alacsony Topo-II expresszió társul kedvezőbb túléléssel [Sakurai, *Thorac Cancer*, 2020]. Látható tehát, hogy nemcsak különböző szervi lokalizációjú daganatoknál figyelhető meg különbség egyes prognosztikai vagy prediktív faktorokra vonatkozóan, hanem akár egy adott szerven belül is, függően a daganat szövettani altípusától.

4. *Az onkogenezis jobb megértéséhez alapvető lenne homogén betegcsoportok (szövettani altípus, stádium) vizsgálata. A korábban „genom őreként” említett P53 tumor szupresszor génnel kapcsolatos – részben saját (P 53 fehérje IHC pozitivitás kedvezőtlen prognosztikus faktornak bizonyult) - ellentmondó megfigyelések alapján, lehetséges ez? Hogyan tekinthetünk jelenleg a P53-ra?*

A P53 génnel és termékével, a p53 fehérjével kapcsolatos korábbi vizsgálatok egyik fő kérdése a géntérítés és a fehérjeeltérítés közti konkordancia volt, ami rendszerint 60-65% körül mozgott. Fontos tehát kihangsúlyozni, hogy az immunhisztokémiai pozitivitás, nem jelent feltétlenül génkárosodást.

A károsodott P53 génműködés helyreállításának lehetőségeit már az 1990-es években intenzíven kutatták, és felmerült a vad típusú (wild type) p53 gén bronchoskopos úton való bevitelének lehetősége is adenovírus vektor segítségével [Schuler, *Hum Gene Ther*, 1998]. Sajnálatos módon a kezdeti lelkesedést nem követte a klinikai gyakorlatban is alkalmazható módszer kialakítása, pedig a p53 fehérje sugárérzékenyítő hatással is rendelkezik, emellett igazolták érzékszódást gátló szerepét is [Gridley, *Int J Oncol*, 1998]. Az egyik génterápiás próbálkozásnál (Advexin) genetikailag módosított adenovírust alkalmaztak, amely vad típusú p53 gént juttat a daganatsejtekbe [Gabilovich, *Expert Opin Biol Ther*, 2006]. Ez a szer azonban azon betegeknél, akik daganatának nagyon magas volt a p53 szintje, nem volt eredményes, mivel a P53 gén tetramerként fejt ki hatását, ha pedig a tetramerben van egy

kóros monomer, akkor működésképtelen. A mutáns p53 fehérje emellett hosszabb félélet-idejű mint a vad típusú, így a normális működéshez jóval több vad típusú fehérjére lenne szükség.

Ugyanakkor bizakodásra ad okot, hogy az utóbbi hónapokban megszorodtak a p53-mal kapcsolatos klinikai vizsgálatok tüdőrákban. A www.clinicaltrials.gov jelenleg 38 vizsgálatot sorol fel, köztük leggyakrabban immunterápiával vagy kemoterápiával kombinált dendritikus sejt-alapú p53 vakcinát (Európából csak Hollandia szerepel a centrumok között). A vizsgálatok közül 17 már lezárult, tehát izgatottan várhatjuk az eredményeket, és amennyiben azok kedvezőek, akkor a vizsgálati készítményekhez való hozzáférést.

5. *A disszertációban kiemelt helyet foglal el a tüdőrák agyi áttéteinek vizsgálata. Hogyan képzelhető el a nyirokcsomó áttét nélküli „brain only” alcsoport a daganatos kórfejlődés jelenlegi ismertében? Nem arról van inkább szó, hogy nem találtak nyirokcsomó érintettséget ezekben az esetekben? Van-e összefüggés 1) a primer tumor sejtes mononukleáris infiltrációja és az agyi metastasis között, 2) az agyi metastasis sejtes infiltrációja és peritumorális oedémája között?*

A *brain only* meghatározás klinikai vagy patológiai TNM stádiumon alapult. Patológiai TNM esetében – megfelelően elvégzett nyirokcsomó disszekció és részletes patológiai feldolgozás mellett – az N0 stádium elfogadható. Természetesen képalkotók eredményén alapuló klinikai TNM esetében felmerülhet a gyanú, hogy a nyirokcsomók mikrometasztázist tartalmaznak, azonban a klinikai stádiummeghatározásnak ez egy ismert bizonytalansági faktora. A *brain only* kategória alkalmazásakor példaként vettük az emlőrákban közismert *bone only* meghatározást, amikor kizárólag a csontban jelenik meg áttét. Hasonlóan a mi vizsgálatunkban megfigyeltekhez, egy több mint 20 000 emlőrákos beteget elemző cikk szerint, a több mint 5000 *bone only* beteg túlélése kedvezőbb volt [Bertho, *The Adv Med Oncol*, 2021].

Saját vizsgálatunkban nem találtunk korrelációt a primer tumor intra- vagy peritumorális mononukleáris infiltrációja és az agyi áttét hasonló paraméterei között (Suppl. Fig. 1). Olyan vizsgálatot ezidáig nem végeztünk, hogy vajon a primer tüdőtumor intra- vagy peritumorális mononukleáris infiltrációja összefüggést mutat-e a daganat agyi áttétképző hajlamával, de azt várnám, hogy az immunsejtek hiánya agresszívabb fenotípussal társul, és ezáltal fokozhatja az áttétképző potenciált.

Az agyi áttét immunsejtes infiltrációja és az agyi áttét körüli ödéma közti összefüggést jelenleg vizsgálja kutatócsoportunk, kiegészítve az immunsejtek fenotipizálásával.

6. *Elsőként számoltak be arról, hogy centrális elhelyezkedésű tüdőrákban a csontáttét, míg perifériás tüdőrákban a tüdőáttét a gyakoribb. Mi lehet ennek mechanizmusa?*

A szerv-specifikus metasztatizálás a carcinogenesis régóta vizsgált jelensége. A Paget által 1889-ben leírt „*seed and soil*” (vetőmag és talaj) teória már több mint 100 éve keresi a választ ezekre a kérdésekre. Egy 2017-es összefoglaló közlemény szerint a legfontosabb „*seed*”

tényezők az EMT (epithelial-mesenchymal transformation), a daganatos őssejtek és az alvó áttéti sejtek jelenléte, továbbá a tumorsejtek által termelt faktorok, mint pl. extracelluláris vezikulák, citokinek vagy kemokinek. A „soil” tényezők ezzel szemben sokkal kevésbé ismertek [Liu, *Molec Cancer*, 2017].

Az általunk megfigyeltre – így a centrális tüdőrákokban gyakoribb csontáttétre, illetve a perifériás tüdőrákokban gyakoribb pulmonális áttétre – biztos magyarázat jelenleg nem adható. Felmerülhet a dohányzás szerepe, mivel a centrális tüdőrákban szenvedők erősebb dohányosak, így vélhetően a daganatuk más citokin- és kemokin-profilal rendelkezik, ami meghatározhatja az áttétképzés irányát. A perifériás tüdőrákok tüdőáttéteinél felmerülhet keringési ok, mivel a tüdő centrális és perifériás régióinak eltérő a kapilláris hálózat sűrűsége [Townsend, *Compr Physiol*, 2013]. A kisereken gazdagabb perifériás primer tumor esetében a tüdőkapillárisokon keresztül – pl. COX2 (ciklooxigenáz-2), MMP1, MMP2 (mátrix-metalloproteináz-1, -2) hatására – megnőhet a tumorsejtek extravazációja, ami pulmonális áttét kialakulásával járhat, amint azt emlőrák sejtvonalakkal végzett állatkísérletekben már megfigyelték [Gupta, *Nature*, 2007].

A primer tumor pontos lokalizációja szerint stratifikált tüdőrák genetikai, epigenetikai és proteomikai tanulmányozása tehát elősegítheti ennek a kérdésnek a megválaszolását.

7. Az onkoterápia szöveti biomarkerekre gyakorolt hatásának vizsgálata kapcsán felmerül a választott metodikával kapcsolatban, hogy mennyire lehetséges a kemoterápia előtti bronchoscopos excidátumon és a kemoterápia utáni sebészi archivált szövetmintán kapott eredményeket összehasonlítani?

A bronchoscopos minták és a sebészi preparátumok összehasonlíthatóságát Meert és mtsai 28 tüdőrák mintapáron vizsgálták. A p53, EGFR, c-erbB-2 és Ki-67 protein expresszió immunhisztokémiai analízise alapján a konkordanciát megfelelőnek, 85%-nak találták [Meert, *Lung Cancer*, 2004]. Esetünkben a kemoterápia után a csökkent PD-L1 expressziót a nagyobb sebészi tumorszövetekben észleltük, így ezen mintákban a fals negativitás gyanúja kevésbé merül fel, mint ha ellentétes irányban változott volna a PD-L1 expresszió. Természetesen minden ilyen típusú vizsgálatnál limitáló tényezőt jelent a tüdőrák heterogenitása.

8. A PD-1 és PD-L1 fehérje IHC vizsgálatokban hogyan lehet a vizsgált mintát standardizálni, hogy a tumorsejtek és az immunsejtek adott százalékos pozitivitása valóban reprezentatív legyen?

Kutatásaink során – amennyiben egy beteg daganatából több blokk is rendelkezésre állt – mindig a leginkább reprezentatív választottuk: sok tumorszövetet tartalmazzon, heterogén daganat esetében minden komponens szerepeljen benne, illetve legyen benne stroma az immunsejtek megítélésére. Igyekeztünk kerülni a necrotikus, vagy egyéb oknál fogva károsodott területeket. TMA (Tissue MicroArray) esetén a legreprezentatívabb blokkból 3 különböző helyről történt mintavétel, figyelve arra, hogy ha esetleg többféle morfológiát mutat a tumor, akkor mindegyik komponensből (solid, acinaris, papillaris, stb.) vegyünk

mintát, továbbá figyeltünk arra, hogy a szövethenger stromát és immunsejteket is tartalmazzon.

9. *Az EGFR státusz IHC-vel történő meghatározásában az EGFR fehérje expresszió mellett meghatározták a foszforilált EGFR fehérje (pEGFR) expresszióját is? Ez utóbbinak mi a jelentősége?*

Az EGFR fehérje foszforilált volta a fehérje aktivációjára utal, így módon a pEGFR státusz jobban tükrözi a fehérje funkcionális állapotát. Fontos azonban hangsúlyozni, hogy pEGFR pozitivitás háttérében nemcsak az EGFR konstitutíván aktív mutációja állhat, hanem feed-back aktiválás is, amit nemcsak a RAS/RAF, hanem a HER2 is okozhat mutáció vagy amplifikáció révén.

10. *A claudin expressziót mutató 9. táblázat és a 22. ábra ugyanazt mondja, ami redundancia. A szemléletesebb ábra mellett a táblázat elhagyható lett volna. A claudin expresszió ismerete mennyiben ad többletet az egyéb IHC módszerrel végzett tumor differenciáláshoz?*

Egyetértek Professzor Úr kritikai észrevételével, a 9. táblázat és a 22. ábra valóban redundancia. Magam is úgy gondoltam, hogy az ábra tükrözi szemléletesebben a szövettani altípusok közti claudin expressziós különbségeket, azonban a táblázatból kitűnik az a fontos adat, hogy a carcinoidok alapvetően alig expresszálják a claudinokat, van köztük azonban erős expressziót mutató egy-két kivétel. Ez a magyarázata annak, hogy végül nem tekintettem el a táblázat bemutatásától. A carcinoidokkal kapcsolatos megfigyelés emellett további vizsgálatsorozat megtervezését teheti indokolttá, mint például egy *típusos carcinoid–atípusos carcinoid–kissejtes tüdőrák* sorozatban a claudin expressziós mintázat tanulmányozását.

A claudin expresszióra vonatkozó eredményeink egyrészt ráirányítják a figyelmet a tüdőrák egy adott szövettani típusán belüli altípusok jelentőségére (lásd lepidikus és nem-lepidikus terjedésű adenocarcinomák közti claudin mintázatbeli különbség), további elősegíthetik a neuroendocrin daganatokon belüli stratifikálást, hasonlóképpen ahhoz, ahogyan azt a közelmúltban publikált eredményeink is mutatják kissejtes tüdőrákban [Lohinai, *Transl Lung Cancer Res*, 2019] [Dora, *Molec Oncol*, 2020].

11. *Nagy értéke a disszertációnak az 1126 ADC-s beteg távoli áttétei és klinikopatológiai jellemzői közötti kapcsolat elemzése. Meglepő módon gyakoribb volt az áttét a perifériás (61%) és jobb oldali (60%) lokalizáció esetén, pedig ezek mellkas rtg-n hamarabb felismerhetők lehetnek a centrális ill. bal oldali lokalizációhoz képest. Hogyan definiálták a korai és késői metastasist? Mivel centrális tumor esetén gyakoribb volt a korai metastasis, indokolt-e ilyen esetben eltérő (kiterjesztettebb) metastasis kutatás)? A perifériás ADC-ben a medián túlélés (OS) kétszer hosszabb volt, mint a centrálisban. Terjedési mintázatban (lepidikus vs. nem-lepidikus) észleltek-e különbséget a két lokalizáció esetében?*

Megfigyelésünk, miszerint perifériás és jobb oldali primer tumor lokalizáció esetén gyakoribb volt az áttét, magyarázható részben azzal, hogy a perifériás daganatok gyakrabban lepidikus

terjedésű, kedvezőbb biológiai viselkedést mutató daganatok, így a hosszabb teljes túlélés több áttét kialakulását is lehetővé teszi. Ehhez kapcsolódik egy még csak poszter formájában bemutatott eredményünk, miszerint az EGFR mutáns (jobb prognózisú) daganatok gyakoribbak a jobb tüdőben [Lohinai, OPS Konferencia, Budapest, 2016].

Korai metasztázisnak a 3 hónapon belül megjelenő távoli áttétet tartottuk.

A primer tumor lokalizációjától függő metasztázis kutatás régi kérdés, és talán a legtöbbször idézett javaslat, hogy „felső lebenyi adenocarcinoma esetén feltétlenül legyen koponya MR vizsgálat agyi áttét kizárása céljából reszekciós tüdőműtét előtt”.

A jelen vizsgálatban nem tértünk ki az adenocarcinomák terjedési mintázata szerinti felosztásra, de ebből a vizsgálati kohorszból folyamatban van egy EGFR/KRAS analízis, és ennek során feltétlenül megteesszük majd.

12. Az agyi áttétek szövettani típusa legtöbbször ADC volt, ami várható volt az egyes szövettani típusok előfordulási gyakoriságának ismeretében. Azt vizsgálták-e, hogy adott primer szövettani típus milyen gyakorisággal adott agyi áttétet? A teljes túlélésben itt medián és átlag értékeket is megadnak, kb. kétszeres időkülönbséggel (12,0 vs. 19,2 hónap, illetve 5,0 vs. 11,2 hónap). Helyes-e átlagot vizsgálni nem normális eloszlás esetén? A 13. táblázatban 548 agyi áttétes esetet szerepel és az eredményekben 254 operált és 303 inoperábilis (összesen 557) esetről ír. Miből adódik az eltérő szám? Mivel magyarázható a jobb túlélés jelentős perifokális oedema esetén? Lehet-e ez pozitív prediktív faktor? Indokolt lehet-e teljes remisszió esetén a PCI laphám- és adenocarcinomában?

Magunk nem vizsgáltuk a tüdőrákok egyes szövettani altípusainak agyi áttét gyakoriságát, azonban egy 938 beteget vizsgáló tanulmányban öt évnél a kumulatív incidencia kissejtes tüdőrákban 29,7%, míg nem-kissejtes tüdőrákban 16,8% volt [Schouten, Cancer, 2002]. Nem-kissejtes tüdőrákon belül az adenocarcinoma szövettan 3,4-szeres relatív kockázatot jelent [Bajard, Lung Cancer, 2004], egy autopsziás vizsgálat pedig tüdő adenocarcinomában 54%-os agyi áttét gyakoriságot igazolt [Cox, Am Rev Respir Dis, 1979].

A túlélésre vonatkozó elemzések során természetesen a medián értékekre megadott adatok a mérvadóbbak. Ugyanakkor a különböző csoportok túlélésének összevetése log-rank teszttel történt, mely közvetlenül a túlélési görbéket (és nem azok származtatott mennyiségeit) hasonlítja össze azzal a nullhipotézissel, hogy a két csoportban a görbék azonosak (élve az arányos kockázatok feltételezésével). Így szignifikáns eltérésről abban az esetben beszélünk, ha a két vizsgált populációban maguk a túlélési görbék jelentősen eltérnek. A mediánra, átlagra és a szélsőértékekre vonatkozó adatok tehát inkább szolgálják a túlélési értékek eloszlásának egyfajta számszerűsített szemléltetését, mint tényleges számítások alapját. Így tehát, a kutatás során az átlagot nem „vizsgáltuk”, pusztán az eloszlást leíró jellemzőként közöltük az értékét.

A 13. táblázat a vizsgált 557 beteg adatait tartalmazza, azonban az alcsoport felosztásoknál nem minden esetben tudtunk a betegek 100%-áról információt nyerni. Ebből adódik, hogy a

pontos hörgőrendszeri lokalizációt (centrális: n=319, perifériás: n=229) csak 548 esetben, a betegek 95%-ánál tudtuk meghatározni, amint azt a táblázatban is jelöltük.

A jelentős perifokális ödéma esetén megfigyelhető kedvezőbb túlélés háttérében állhat az a tény, hogy ilyenkor hamarabb jelentkeznek neurológiai tünetek, így – különösen szoliter áttét esetében – hamarabb kerülhet sor idegsebészeti beavatkozásra.

A nem-kissejtes tüdőrákban meglévő igen magas agyi áttét arány feltétlenül indokolja az annak megelőzésére való törekvést. Fontos ugyanakkor, hogy a PCI (Prophylactic Cranial Irradiation) esetleges késői szövődményének csak azokat a betegeket tegyük ki, akiknél az agyi áttét rizikója igen magas. Amennyiben jelentősen bővülnek ismereteink a primer tüdőrák agyi áttétképző potenciáljáról, úgy megfelelő betegszelekcióval laphámrákban és adenocarcinomában is lehet létjogosultsága a PCI-nak.

13. Az EGFR expresszió elemzésében, a 21. táblázatban nem lett volna-e helyesebb a dohányzás szerinti csoportosításban az exsmoker-t inkább a smoker csoporthoz sorolni, mint a nonsmoker-hez?

Köszönöm a 21. Táblázatban a dohányzás csoportosításra vonatkozó kritikai észrevételt, teljes mértékben egyetértek vele. A jelen felosztást mindössze az indokolta, hogy összességében a betegek kevesebb mint 5%-a tartozott a sosem-dohányzott alcsoportba, így, amennyiben a sosem-dohányzott vs. valaha-dohányzott kategóriákat alkalmazzuk, nem lett volna lehetséges statisztikai kiértékelés a dohányzási anamnézis szempontjából.

14. Több helyen előfordul (pl. 82., 86., 112.o) a „bár statisztikailag nem szignifikáns, de klinikailag figyelemre méltó ... nem szignifikáns, de emelkedett ... trend ... kedvező tendencia” értékelés. Hogy lehet ezt értelmezni? Szerintem ezen esetek klinikai relevanciája erősen kérdéses.

A statisztikai szignifikanciára vonatkozó megállapításokat erősen befolyásolja a vizsgált mintahalmaz számossága, illetve a mért értékek konkrét eloszlása. Előfordulhat, hogy egy igen speciális betegcsoportban csak néhány páciensre vonatkozó adatok állnak rendelkezésre éppen a betegség ritkasága miatt. Ekkor egy olyan trend, mely az összes vizsgált beteg esetén megmutatkozik, még nem feltétlenül lesz statisztikailag szignifikáns az alacsony esetszám miatt. Mindezek ellenére egy ilyen trend nagy jelentőséggel bírhat, hiszen arra hívja fel a figyelmet, hogy érdemes az esetszám növelésével kifejezetten az adott tendencia vizsgálatára fókuszálni a további kutatások során. Mivel a disszertációban bemutatott kutatási témák rendkívül kurrens eredményekre épülnek, minden (adott esetben nem szignifikáns) megállapítás potenciálisan releváns klinikai konklúziók alapját képezheti a jövőben.

Ezt a kérdéskört jól illusztrálja pl. a LUME-Lung-1 klinikai vizsgálat, amelyben 565 beteg docetaxel-nintedanib kezelésben, míg 569 beteg docetaxel-placebo kezelésben részesült [Reck, Lancet, 2014]. A medián PFS a nintedanib csoportban 3,4 hónap, míg a placebo csoportban 2,7 hónap volt. A különbség (0,7 hónap!) statisztikailag szignifikáns volt ($p=0,0019$), azonban klinikailag ez az előny megkérdőjelezhető. Saját munkáink során ezzel

szemben számos esetben figyeltünk meg akár többhónapos különbséget is (62. ábra: G12V KRAS mutáns daganatoknál a PFS 233 nap vs. 175 nap a G12x mutáns daganatoknál ($p=0,145$); 65. ábra: KRAS mutáns daganatoknál az OS 7,0 hónap vs. 10,2 hónap a KRAS wt tumoroknál ($p=0,21$); medián PFS klasszikus EGFR mutációnál 12,0 hónap vs. 6,2 hónap a ritka EGFR mutációnál ($p=0,076$)). Az alacsony esetszám miatt statisztikai szignifikanciát nem tudtunk igazolni, mégis fontosnak tartottuk bemutatni az ilyen mértékű különbségeket.

15. Hogyan látja az EGFR mutáció – aktiváció – expresszió jelentőségét a tüdő ADC terápiás befolyásolhatóságának függvényében? Ezek mennyire függetlenek egymástól?

Az elmúlt évek kutatásai egyértelműen bebizonyították, hogy tüdőrákban az EGFR aktiváló, szenzitizáló mutációja az, amely valódi prediktív értékkel bír az EGFR-TKI kezeléseknél. Korábban voltak próbálkozások EGFR ellenes antitest terápiával, cetuximabbal kapcsolatban. A FLEX vizsgálatban szelekciós kritériumként az igencsak megkérdőjelezhető 1%-os EGFR immunhisztokémiai pozitivitást alkalmazták, de mindössze 1 hónap teljes túlélési előnyt tudtak igazolni a cetuximabbal kombinált kemoterápiás karon [Pirker, Lancet, 2009]. Vannak próbálkozások az EGFR protein expresszió és a génamplifikáció kombinálásának prediktív értékével kapcsolatban is, azonban az eredmények nem meggyőzőek [Bonomi, Ann Oncol, 2018].

Amint azt saját vizsgálatunkban bemutattuk – és azóta több más munkacsoport is igazolta –, az EGFR mutáció, amplifikáció és protein expresszió egymástól függetlenül is bekövetkezhet, így egyik jelenlétében sem feltételezhetjük vagy zárhatjuk ki a másikat [Nomura, Plos Medicine, 2007]. További diagnosztikai kérdést vet fel az alkalmazott FISH próbák fajtája, az antitestek típusa, valamint az EGFR immunpozitivitás score értékének meghatározása is, amelyek mind a standardizálás szükségességét vetik fel.

16. Az immunellenőrzőpont-gátló kezelés prediktív faktorainak vizsgálatában azt találták, hogy a tumor nekrosis, bár szignifikáns előrejelzője a PD-1 és PD-L1 expresszióknak, azonban az alacsony R értékek (0,283; 0,215; 0,290) miatt a tumor nekrosis az immunpozitivitás csupán 8%-ért felelős. Mennyire segítheti ez a terápiás döntést?

Tekintettel az immunterápia költséges voltára, nagy hangsúlyt kapnak a betegszelekciót célzó biomarkerek. Bár a PD-L1 expresszió – különösen 50% feletti TPS (Tumor Proportion Score) esetén – valóban mutat összefüggést a terápiás válasszal, további markerek szükségesek a valóban személyre szabott terápiához. A DNS-szekvenálási technológia klinikai gyakorlatba való bevezetése lehetővé tette a TMB (Tumor Mutation Burden) meghatározását, ami ugyancsak mutat összefüggést az immunterápia eredményességével [Hellmann, NEJM, 2018]. Mindezek mellett azonban még további biomarkerekre lenne szükség, és talán egy kombinált klinikopatológiai score segítségével – mely tartalmazza a PD-L1 és a TMB mellett a beteg perifériás lymphocita számát, a TIL denzitást, a tumor necrosis jelenlétét és egyéb markerek (pl. TNF α) expresszióját – pontosabban megjósolható az immunterápia hatásossága.

17. *Ha felfedezik, akkor ritka EGFR mutáció esetén is érdemes-e – és ha igen, milyen esetben – TKI kezelést indítani, vagy ilyen esetben nincs túlélési előny a kemoterápiához képest?*

Az FDA 2018-ban törzskönyvezte a második-generációs, irreverzibilis tirozinkináz-gátló afatinibet a ritka EGFR pontmutációval (S768I, L861Q és G719X) rendelkezők kezelésére a LUX-Lung-2, -3 és -6 klinikai vizsgálatok eredményei alapján [Yang, *Lancet Oncol*, 2015]. Az EGFR 18-as exonjának G719A mutációjával kapcsolatban saját tapasztalattal is rendelkezünk, mivel egy nemdohányos férfibetegünknel gefitinib kezeléssel kezdetben látványos regressziót, majd összességében 23 hónapos betegséggkontrollt sikerült elérnünk [Puskás, *Med Thor*, 2016].

Amennyiben olyan ritka EGFR mutációt detektálunk, amelynek szerepe kérdéses, de biztosan nem rezisztencia mutáció, akkor mindenképpen célszerű EGFR-TKI kezelést alkalmazni, mivel annak hatásossága esetén a kedvező radiológiai válasz már akár 1 hónapon belül megfigyelhető, amint azt egy publikált saját esetünk is bizonyítja [Moldvay, *Magy Onkol*, 2014].

18. *Mi a véleménye az alábbi megállapításról? „Tüdőrák-kezelés hatékonyságának pontos megítélésében csak a PFS fogadható el, mivel az OS-ben a dohányzás és az előrehaladott életkor miatt a társbetegségek szerepe ritkán pontosítható”*

Egy adott készítmény terápiás hatékonyságát leglátványosabban kétségtelenül a PFS (progressziómentes túlélés) mutatja meg, mivel számos vizsgálatban megengedett a *cross-over*, tehát a másik terápiás kar készítményével történő további kezelés. Ennek eredményeképpen egy jelentős PFS különbség nem feltétlenül jár együtt OS (teljes túlélés) különbséggel. Az is vitathatatlan, hogy a tüdőrákos beteg teljes túlélését számos tényező, így a dohányzás és a következményes társbetegségek, a szociális státusz és a mentális egészség egyaránt befolyásolják. A tüdőrákos beteg kezelése során azonban kétségtelen cél a teljes túlélés növelése, és a legtöbb vizsgálat valóban ezt tűzi ki célul és ez alapján ítéli meg a vizsgálati készítmény terápiás hatékonyságát. Ugyanakkor önmagában az OS meghosszabbítása csak abban az esetben kívánatos, ha érdemi PFS is elérhető, ellenkező esetben azzal a veszéllyel járhat, hogy az OS megnövelésével a betegnek csak a szenvedését hosszabbítjuk meg.

Végezetül szeretném ismételten megköszönni Somfay Professzor Úrnak disszertációm apró részletekre is kitérő, alapos bírálatát, és kérem válaszaim elfogadását.

Budapest, 2021. 03. 21.



Moldvay Judit