

Opponensi vélemény

Dr. Moldvay Judit: Differenciáldiagnosztikai, prognosztikai és prediktív szöveti biomarkerek vizsgálata tüdőrákban

című MTA Doktori Értekezéséről

A doktori értekezés napjaink leggyakoribb rosszindulatú daganatának, a tüdőráknak a legújabb elméleti alapokon végzett sokirányú elemzését tűzte ki célul, részletesen összehasonlítva a klinikopatológiai, prognosztikai és a kezelés szempontjából meghatározó eltéréseket. A munka a szerző 23 korábban már publikált közleményének eredményein alapszik, tételesen utalva és szerkesztésében is követve ezen folyóirat cikkek rendszerét. A hivatkozott angol nyelvű tanulmányok tematikája ugyanakkor olyan szerencsésen illeszthető össze, hogy a végeredmény az elmúlt 15 év tüdőrákokra vonatkozó biológiai-patológiai kérdéseinek többségét magas szinten tárgyaló írásmű. Az egyes résztanulmányok az Eredmények egy-egy fejezetét teszi ki, a Bevezetés és Módszerek, valamint a Megbeszélés közös, az utóbbi folyamatos elrendezésben magyarázza és röviden diszkutálja a korábban leírt megfigyeléseket.

Az értekezés nettó 185 oldalt tesz ki, melyet a Tartalomjegyzék, Rövidítések jegyzéke és a 446 referenciát tartalmazó Irodalomjegyzék egészít ki. Formailag a dolgozat nem hagy kívánni valót, a szöveg igen alaposan gondozott és világosan szerkesztett. Az ábrák és táblázatok egy része az eredeti közleményből átvéve angol nyelvű maradt. Egyes mikroszkópos felvételek mérete indokolatlanul kicsi, általánosan kiváló minőségük bőven megengedné a nagyobb méretezést.

A bemutatott munka hosszú idő alatt végzett rendszeres és elkötelezett kutatói tevékenységről tesz tanúbizonyságot. Minden részprojektben érzékelhető a megvizsgált szöveti paraméterek és a klinikai viselkedés, kimenetel összekapcsolásának igénye gyakorlati, klinikai hasznosítás céljából. Általánosságban megállapítható, hogy a szerző igen korán, az elsők között reagált a tüdőrákok kutatásában felbukkanó újabb és újabb vizsgálati lehetőségekre, klinikusi szemléleténél fogva gyakorlati kérdéseire keresett – és többnyire talált - válaszokat.

A munka során alkalmazott módszertan mindig aktuális újdonságnak számított, azonban gyakorlati jelentőségénél fogva igen hamar a klinikai rutin részévé vált. Így találkozhatunk a dolgozatban mára jól ismert, alapvető sejtaktivációs markerekkel (pl. TTF-1, claudinok, EGFR, ERCC1), prediktív jellegű mutáció vizsgálatokkal (EGFR, KRAS génszekvencia analízis), ill. a daganatellenes immunvédekezést befolyásoló markerekkel (PD-1, PD-L1 meghatározás). A vizsgálatok nagyszámú eseten kerültek elvégzésre, a 32. oldal táblázata szerint összesen 4637 beteg mintáinak, adatainak elemzésével. Az általános összehasonlító módszertan a betegség egészére is gondol, a szövettani/biológiai altípusokon túl többnyire kitér az anatómiai lokalizáció, a primer-áttétes, a soliter-multiplex áttétes, a kezelés előtti-utáni viszonyok összefüggéseire.

Ilyen komplexitás esetén aligha várható el a teljes adatbázis átláthatósága, érdekes volna azonban tudni, mely mértékben szerepeltek az egyes vizsgálati minták átfedő módon az egymás utáni tanulmányokban és az esetleges átfedés lehetőséget ad-e a keresztbe validálásra. Véleményem szerint a dolgozat minőségét és egységét egyetlen ponton lehet kritizálni, miszerint a longitudinálisan felépített, hasonló összetételű kohorszra alapuló tanulmányok külön kérdésekre, mechanizmusokra irányulnak, és a néha kézenfekvő összefüggések kifejtésére nem kerül sor. Így foglalkozik pl., a tüdőrákok agyi metasztázisait körülvevő peritumoralis ödéma és az anatómiai lokalizáció kérdésével, majd később a metasztázist kísérő immun infiltrátum mértékével, azonban a peritumoralis ödéma és az immunsejtek intra/peritumoralis denzitásának összefüggése nem kerül vizsgálatra.

A számos eredmény ismertetése során természetesen becsúsznak apró pontatlanságok, félreérthető megfogalmazások, ezek száma azonban nem magas és a mű értékét nem befolyásolják. A 26. ábra magyarázatában pl. az erős asszociáció kék, gyenge sárga színre utal, holott a számok pont a fordítottját jelzik; a 31-32. ábrában százalékos arány helyett a nehezen kibogozható esetszámok kerültek megadásra; a 14. táblázatban részletes eredmények olvashatók 17 IHC-val meghatározott biomarker expressziójáról, a szöveg a későbbiekben viszont 29 marker vizsgálatait ismerteti; azonban a lényegét nem érintő apróságok feltárása nem célja bírálatomnak.

Az értekezés összességében igen alapos, informatív, a hazai tudományos életben egyedülállóan bőséges, sokoldalú, mégis egy témára koncentrált. Javaslom a munka

nyilvános vitára bocsájtását. A szakmai értékelés során a következő kérdéseim merültek fel, melyekre a jelölt választát izgalommal várom.

Kérdések:

1. Létezik-e olyan tüdőrák adatbázis, ahol hasonló vizsgálatok eredményei nagy számban elérhetők és ahová a kutatási adatokat feltöltve az értékes eredmények – túl a publikáció adta lehetőségeken – további kutatások számára elérhetők?
Mennyire volnának az ilyen adatbázis elemzések hasznosak egy adott biológiai mechanizmus szerepének gyors validálására?
2. EGFR genetikai vizsgálatok (7.3.2. fejezet, 95. oldal): EGFR génrégió FISH vizsgálatai 97/118 esetben vezettek eredményre, melyek között 39 (40%) FISH pozitív minősítést kapott. Az elnevezés nem szerencsés, mert bármely, a normálistól eltérő eltérést magában foglal, ám egyes, lényegtelennek tartott eltérések (pl. a 14% körüli triszómiás eset) ebből a csoportból később kikerültek. A rövid leírásból nem világos, hogy a FISH-pozitivitás a génamplifikáción túl a meggyőző poliszómiát jelenti? Az összehasonlításból látható (52. ábra), hogy a fehérjeexpresszió, a kópiaszám eltérés és a mutációs státusz az amplifikált eseteket leszámítva jelentős összefüggést nem mutat, így érdemes lett volna a poliszómiás, ill. triszómiás eseteket külön is elemezni, fehérje, mutáció szempontjából.
3. A 7.3.3.1. alfejezetben az EGFR génvariánsok vizsgálata kapcsán a ritka EGFR variánsok is kimutatásra kerültek, bár ezek egy része minden valószínűség szerint nem releváns anti-EGFR terápia szempontjából. A ritka variánsok esetében a bioinformatikai adatbázisok ráadásul bizonytalan, ellentmondásos megállapításokat tükröznek, így a patogén/onkogén besorolás mellett gyakrabban ismeretlen (unknown), vagy éppenséggel jóindulatú (benign) meghatározás is szerepel. Milyen mértékben sikerült az EGFR génszekvenálás után a ritka variánsok egzakt prognosztikai, prediktív besorolása tanulmányaik során?
4. Kifejezetten érdekes kérdés az EGFR aktiváció megközelítése pEGFR IHC alkalmazásával a génmutációs státusz függvényében (7.3.5. fejezet). Vajon vannak-e hasonló eredmények (pEGFR) az EGFR gén amplifikációjával kapcsolatban is? Milyen

mértékben járhat a génamplifikáció a pEGFR útvonal aktivációjával? Szóba jöhet-e a pEGFR IHC mint praktikus alkalmazható surrogate marker?

5. A 7.3.6. fejezetben a szerző a KRAS mutációk kérdését elemzi tüdőrák mintákban. Megállapítja, hogy a vizsgálat érzékenysége 10% tumorsejt arány alatt nem megfelelő, ilyen esetek eredményei talán nem is szerepelnek. A KRAS mutáns tüdő ADC-k aránya tanulmányukban 32,1% bizonyult, ami mai szemmel nézve kissé alacsony, jelen technológiai platform alkalmazásával a KRAS variánsok aránya 40% körüli. Vajon mindez az alacsony allélfrekvenciával jelentkező esetek a korábbinál (Sanger szekvenálás) jobb kimutathatósága következtében alakult így? Mi a véleménye a jelöltnek a fokozott érzékenységű módszerekkel kimutatott, nem domináns (alacsony VAF) mutáns allél jelentőségéről, prognosztikai, klinikai szerepéről?
6. A 7.4.2. és 3. pontban a PD1 és PD-L1 expresszió viszonyai kerültek a középpontba. Új markerek bevezetése kapcsán mindig felmerül a kérdés, hogy a hazai betegösszetétel milyen mértékben felel meg az első nemzetközi (elsősorban amerikai) közléseknek. Sajnos az értekezésben bemutatott adatokból a valós statisztikai eredmények (pozitív esetek %-ban) számomra nem derültek ki, igaz, a betegösszetétel nem feltétlenül alkalmas a célcsoport nagyságának a felderítésére (randomizáció). Rendelkezésre állnak-e a magyarországi tüdőrákok PD-L1 pozitivitására vonatkozó, saját, vagy más forrásból származó statisztikai számadatok és mik az ebből levonható tanulságok?
7. Ugyanebben a fejezetben meglepően stabil összefüggést tudtak kimutatni primer tumor/metasztázis PD-L1 expressziójának viszonylatában. Ez felveti azt a gyakorlati kérdést, hogy metasztatikus folyamatban esetleg valóban elégséges lehet-e a primer minta IHC tesztelése immun-checkpoint terápia indikációjára?

Debrecen, 2021. február 7.

Prof. Dr. Méhes Gábor

egyetemi tanár, az MTA doktora