

Válasz Prof. Dr. Melegh Béla bírálataira

Tisztelt Professzor Úr!

Szeretném megköszönni értekezésem alapos áttekintését, a kisebb formai és tartalmi észrevételeket és a támogató gondolatokat egyaránt.

Az alábbiakban válaszolok az értekezéshez kapcsolódó kérdésekre.

1. kérdés: Tézisei szerint elsőként térképezték fel több hazai myeloid malignitás halmozódását, melyben egy részben sikeresen azonosítható volt csíravonalbeli genetikai eltérés. Véleménye szerint, mennyiben tekinthető ez „magyar specifikusnak”? Tovább boncolva a kérdést, lehetséges-e, hogy a vizsgált családok ugyanazon európai mintához tartoztak, vagy PCA (fő komponens, azaz principal component analysis) analízisek esetén hasonló eigen vektorokkal rendelkeznek?

Válasz: Köszönöm az izgalmas kérdést. Két hazai család esetében sikerült a csíravonalbeli genetikai eltérést azonosítani. Egyik esetben egy stop kodont eredményező mutációt azonosítottunk a RUNX1 transzkripció faktor génjében az édesanya és négy leánygyermek esetében. Ez a genetikai eltérés nemzetközi adatok alapján is ismert az FPD-AML kórképcsoportban. A másik család esetében egy a TERC gén részleges delécióját azonosítottuk két MDS-ben szenvedő gyermek (egy fiú és egy lány) és édesapjuk esetében. Bár a konkrét TERC variánsról nem találtunk információt az irodalomban, a gén egyéb variánsai ismertek e kórképben. Az irodalmi adatokat is figyelembe véve nem tekintjük ezeket az eltéréseket „magyar specifikusnak”. A családok részletes összehasonlító populációs elemzésével és PCA analíziséhez sajnos nem rendelkezünk elegendő információval (az egyik család esetében mindössze az ismert hajlamosító gének forrópontjait vizsgáltuk), ugyanakkor a különböző fenotípus és az érintett jelátviteli útvonalak különbözősége okán szorosabb kapcsolatot nem feltételezünk.

2. kérdés: Hasonló kérdés vetődik fel a JAK2 CALR mutáns allélterhelés vonatkozásában. Az érintett beteganyag általános genetikai karakterizálása (pl: IBD, azaz identity by descent) vagy bármilyen hasonló megközelítés esetleg fedhetne-e fel olyan összefüggést, mely alapján ezen betegek populációs stratifikációja is megtörténhetne?

Válasz: A JAK2 vagy CALR mutáns MPN esetében alapvetően szomatikus genetikai eltérésekkel szemben állunk szemben. Jelen tudásunk szerint a mutáns allélterhelés mértéke döntően a tumor progressziójának dinamikájától függ, így egy általános genetikai karakterizálástól nem várnánk az allélterhelésre vonatkozó többletinformációt. Mindazonáltal elképzelhető, hogy a csíravonalbeli genetikai háttér jellemzése a JAK2 és/vagy CALR mutáns MPN-re hajlamosító eltérések azonosításához vezethet. Ehhez

kapcsolódóan a következő kérdésnél részletesebben említett JAK1 46/1 haplotípus érdemel említést.

3.kérdés: Jelölt csoportja által azonosított új CALR mutációk eredetére van-e elképzelés? Pontosítva, maga a mutáció, vagy a hajlamosító gén környezet bírhat-e bármilyen founder környezettel?

Válasz: A CALR génben általunk elsőként leírt új szomatikus mutációk kialakulásának mechanizmusára egyelőre nincs pontos magyarázat. Saját és irodalmi adatok alapján is úgy tűnik, hogy a gén inszerciós és deléciós mutáció bírnak olyan szelekciós előnnyel, amely az MPN kialakulásában patogén szerepet betöltő variánsok megjelenéséhez vezet. A hajlamosító génkörnyezet tekintetében a 2009-ben azonosított JAK2 46/1 haplotípus említendő, amely a prediszpozíciós tényezője az MPN kialakulásának. Fontos kiemelni, hogy a 4 SNP-vel jellemzett haplotípus az ún „fertile ground” hipotézis alapján nemcsak a JAK2 V617F mutációt hordozó MPN kialakulásra hajlamosít, hanem a CALR-mutáns, MPL-mutáns és ún. tripla negatív MPN kialakulásának rizikója is fokozott e csíravonalbeli konstelláció jelenléte esetén.

4. kérdés: Módszertani arzenálja elég széles, ugyanakkor átrendezések tekintetében az MLPA-ra szorítkozik. Véleménye szerint, a szekvenált betegek/minták (WES és NGS) nagy felbontású array vizsgálatok minden esetben nem adhatott volna további kezelhető információkat?

Válasz: A kópiaszámeltérések tekintetében további array vizsgálatok minden bizonnyal nyújthattak volna további használható információt. A myeloid kórképek esetében, ahol MLPA-t alkalmaztunk, alapvetően egy a mindennapi onkohematológiai gyakorlatban könnyen és költséghatékonyan alkalmazható és elérhető módszert kívántunk alkalmazni, míg a WES-sel vizsgált entitások esetében az aktuális időszaknak megfelelő variáns hívási algoritmusok alkalmazásával meghatároztuk a kópiaszámeltéréseket és azokra szorítkoztunk.

5. kérdés: CALR mutációkkal kapcsolatosan automatizált fehérje szintű mennyiségi meghatározásra alkalmas módszert dolgoztak ki. Véleménye szerint, nem lett volna indokolt a fehérje meghatározás kontrolljára bármilyen más sztöchiometriás megközelítés alkalmazása, mint tömegspektrometria, MALDI TOF, stb?

Válasz: Jogos a Bíráló felvetése egy kvantitatívabb módszer kontrollként való alkalmazása kapcsán, azonban a rendelkezésre álló formalin-fixált paraffinba ágyazott szövetminták esetében az említett metodikák korlátozottan alkalmazhatóak. Másrészt kifejezett célunk volt a CALR mutáns fehérje in situ expressziójának feltérképezése.

6. kérdés: Az FL transzformációjának gén szintű feltérképezése során új mutációs célpontokat és evolúciós mechanizmusokat azonosítottak. Hogyan látja a megismerés óta eltelt idő tükrében ezen megfigyelések a klinikai hasznosíthatóságnak jelentőségét elsődlegesen terápiás szempontból?

Válasz: Az FL transzformációjának feltérképezése során tett megfigyeléseink klinikai hasznosítása kapcsán az EZH2 mutációk szerepe emelendő ki, amely mára a szelektív EZH2 gátlók szerek prediktív biomarkerévé vált. Az első szelektív EZH2 gátló szert (Tazemetostat) 2020 nyarán engedélyezte az FDA a relabált/refrakter, több kezelésen átesett FL (akár transzformált) FL kezelésére. Hazánkban ez a gyógyszer klinikai tanulmány formájában érhető el a fenti indikációban. Az EZH2 mutáns betegek Tazemetostat-tal való kezelése az első olyan terápiás lehetőség a B-sejtes lymphomák körében, amely egy specifikus mutáció meglétére alapul. Az további mutációs célpontok klinikai jelentőségének tesztelése napjainkban is zajlik FL-ben, döntően prediktív és prognosztikus szerepük vonatkozásában.

Köszönöm az észrevételt a módszerek leírása és az eredmények közzlése közötti hiányosságra, amelyet az előadásban próbálok/tam meg megfelelő részletességgel pótolni.

Végül ismételtelen köszönöm Melegh Béla Professzor Úrnak értekezésem bírálatát, építő kritikáját és támogató gondolatait. Tisztelettel kérem válaszaim elfogadására.

Tisztelettel:



Dr. Bödör Csaba

Budapest, 2021. május 30.