Válasz Prof. Dr. Módis László opponensi véleményére, kérdéseire.

Szeretném megköszönni Módis László professzor úrnak, hogy doktori értekezésem bírálatát elvállata. Köszönöm, hogy részletes bírálatával, kritikai megjegyzéseivel és a kérdésekkel segít egy-egy probléma továbbgondolásában, megoldásában. Külön köszönöm az elismerő szavakat is.

Válaszaimat a kérdésekre és a megjegyzésekre az alábbiakban adom meg:

Kérdés: Nem találtam annak leírását, hogy a szerző milyen pozitív és milyen negatív kontroll módszereket alkalmazott az immunhisztokémiai reakciók értékelése során. Különösen a negatív kontrollok mindenkori (azaz minden egyes reakció elvégzésekor szükséges) alkalmazása lényeges, hiszen e nélkül a fals pozitív reakció veszélyeztetheti a korrekt értékelést.

Teljesen jogos a kérdésfelvetés, hiszen az immunreakciók interpretálása az egyik legkritikusabb dolog a diagnosztikus és kutatói munkában. A pozitív és negatív kontrollokat többnyire un. beépített kontrollként alkalmaztuk, ami azt jelenti, hogy a tumor-ép határról kivágva és indítva az anyagot, szinte mindig találtunk belső kontrollokat (főleg a negatív kontrollokat illetően). Amennyiben ez nem volt lehetséges (pl. csak tumor szövet állt rendelkezésre) úgy különböző ismert tumorok és normál szövetek álltak és állnak rendelkezésre megfelelő pozitív és negatív kontrollként.

Kérdés: Nem világos a ”standard avidin-streptavidin-peroxidase” módszer jelentése: az avidint és streptavidint ugyanabban a rendszerben (egyszerre) használták, vagy külön-külön? (6.o.)

Minthogy a leírt munka viszonylag hosszú időt ölel át, nem volt pontos a fogalmazás az avidin-streptavidin tekintetében. A vizsgálatok legkorábbi idejében avidin-biotin-peroxidase módszert alkalmaztunk, majd gyorsan áttértünk a strepavidin-biotin-peroxidase rendszerre. Az igazsághoz hozzátartozik, hogy körülbelül 4 éve pedig a teljesen automatizált Bond, antitest-polymer-peroxidase módszert használjuk, mely igen nagyfokú stabilitást, standardizálást jelent.

Kérdés: A szerző többféle tumoron (óriás sejtes csont tumor, synovialis sarcoma, perifériás idegtumorok, gastrointestinalis stromalis tumor – GIST) végezte a vizsgálatait. Milyen megfontolás vezette a szerzőt akkor, amikor ezeket a tumorokat választotta részletes elemzésre?

Nincs egységes állásfoglalás, hogy a lágyrész és csont tumorok vajon lényegében egy egységes mesenchymalis tumorcsaládot képeznek-e, de a gyakorlatban mégis összetartozó tumorféleségeknek tekinthetők, ezt támasztja alá az is, hogy a WHO egy könyvben tárgyalja a két nagy csoportot. Az általam vizsgált daganatok közötti kapcsolat az, hogy mindegyik daganatféleség mesenchymalis tumornak felel meg, mai tudásunk szerint ezen daganatok közös mesenchymalis pluripotens őssejtekből differenciálódnak különböző irányokba.

Kérdés: Az elvégzett statisztikai módszerek között szerepel a Student t-teszt. Teljesült-e minden esetben a t-próba elvégzésének minden előfeltétele?

A t-próba előfeltételei, úgy mint a normál (Gauss) eloszlás és a megegyező szórás, teljesültek. A t-próbát azonban valójában csak az óriássejtes csont tumorok jelútrendszereinek vizsgálatakor alkalmaztuk mely a doktori munkához csupán lazán kapcsolódott. Egyébként legtöbbször a Fisher exact tesztet és a Khi-négyzet próbát használtuk.

Kérdés: Az utóbbi időben bevezetésre került a DOG1 immunhisztokémiai reakció alkalmazása, amelyet specifikusnak tartanak a GIST-re. Változtatott-e ezen antitest használata a GIST differenciáldiagnosztikai algoritmusának menetén, beleértve a molekuláris analízist is?

Igen, méghozzá jelentős mértékben. A DOG1 (**D**iscovered **O**n **G**IST) immunreakció használata nagy mértékben segít a ckit (CD117) negatív GIST-ek diagnosztikájában, ugyanis a DOG1 reakció a mesenchymalis tumorokat figyelembevéve nagyon specificus és egyben nagyon szenzitív a GIST-re. A DOG1 reakció használata előtt a CD117 negatív gastrointestinalis stromális tumorokat (ha nem mutattak jellegzetes myogén vagy neurogén differenciációt) végig kellett szekvenálni gyakorlatilag az összes PDGFRA exon tekintetében (ami igen időigényes és költséges vizsgálat), hogy igazolni, vagy kizárni tudjuk a GIST diagnózist. Ma azonban, ha egy CD117 negatív gastrointestinalis stromális tumorról van szó ami DOG1 pozitívnak bizonyul, akkor a GIST diagnózis biztos, és elégséges csupán a PDGFRA 18 exon mutációjának vizsgálata a kritikus D842V rezistencia mutáció kizárása érdekében.

Kérdés: A gyulladásos fibroid polipban is kimutatható PDGFRA mutáció. Miért nem tartható ezen elváltozás akkor egy c-kit negatív GIST-nek?

Elsősorban a morphológiai megjelenés és a klinikai viselkedés miatt. A jellegzetes, főleg eosinophil sejtes gyulladásos beszűrődés gyakorlatilag nem jellemző a GIST-re, de ennél is fontosabb, hogy bármekkora is legyen (nagyságát illetően) az inflammatorikus fibroid polip (Vanek tumor), eltávolítás után nem újul ki, és nem ad metasztázist, tehát egyértelműen

benignus tumornak tartható, míg a GIST potenciálisan malignus daganat. Érdekes, hogy többségben a mutációs helyek és formák különböznek a két daganatot illetően, de kis százalékiban a Vanek tumorban is kimutatható a PDGFRA 18-as exonjának D842V mutációja, ami un. genetikai „promiszkuitást” jelent, és hangsúlyozza azt a tényt, hogy bár nagyon ritkán, de különböző daganatoknál azonos genetikai eltérés mutatható ki. Egyébként a Vanek tumor DOG1 negatív, ami további segítséget jelent az elkülönítésben.

Budapest, 2012. március 21.

Prof. Dr. Sápi Zoltán
egyetemi tanár