

## Opponensi vélemény

**Dr. Kiss András**

### **„Tight junction alkotórészek és mikroRNS expresszió vizsgálata humán daganatokban, különös tekintettel a májdaganatokra”**

című MTA doktori pályázatáról.

#### **Általános értékelés**

Dr. Kiss András fenti címmel nyújtotta be MTA doktori pályázatát, melynek alapjául szolgáló vizsgálatait döntően a Semmelweis Egyetem II. sz. Patológiai Intézetében, Budapesten végezte.

A jelölt tudományos munkássága sokoldalú, összesített impakt faktora a pályázat benyújtásakor 192,9, független citáltsága 1510, Hirsch indexe 27 volt.

Az MTA doktori cím odaítélésére benyújtott értekezés 15 általa irányított utolsó szerzős közleményen alapul. Ezek mindegyike impakt faktoral rendelkezik, review folyamaton átesett, nemzetközi folyóiratban jelent meg, a PhD fokozat elnyerése után, 2006 és 2014 között. Összesített impakt faktoruk 58,498, független citációjuk 139.

Az értekezés különböző szervek tumorai kacsán a sejtek között tight junctiók alkotórészeinek és mikroRNS expressziójának vizsgálatait foglalja össze, a pályázó saját munkán alapuló eredeti megállapítása diagnosztikus, terápiás, és prognosztikus szempontból is fontosak lehetnek. A daganatos betegségekkel kapcsolatos halálozás és a betegkörrel kapcsolatos magas egészségügyi ráfordítás pedig egyaránt aktuálissá teszik a témaválasztást.

Tekintettel arra, hogy az értekezésben szereplő eredmények kivétel nélkül impakt faktoral rendelkező nemzetközi folyóiratban jelentek meg, a bírálónak jelentős tartalmi észrevétele nincsen. Néhány formai megjegyzésemet és kérdéseimet az alábbiakban fogalmazom meg.

#### **Formai észrevételek**

A benyújtott munka 208 oldalon, egységes szerkezetben foglalja össze pályázó kutatásait a fenti címmel. Az értekezés érdemi részei, a bevezetés, célkitűzések, módszerek, eredmények, új megállapítások, és megbeszélés fejezetek együtt 179 oldalt tesznek ki, 118 ábrával és 34 táblázattal. Ezt egészíti ki a rövidítések jegyzéke, a tartalomjegyzék, az irodalom, a köszönetnyilvánítás, és a pályázat alapját képező publikációk listája.

A szövegszerkesztés és a kivitelezés általánosságban dicsérhető. Az értekezés nyelvezete alapvetően jól érthető, az egyes fejezetek arányosak. Nehezíti azonban az áttekintést, hogy a szakmai részben több mint 100 rövidítéssel találkozunk, néhány helyen pedig váltakozva fordul elő a teljes név és a

rövidítés (pl. mikroRNS és miR, claudin és CLDN). A nem túl gyakori elütések és szerkesztési pontatlanságok közül talán egy volt csak értelmezhetetlen (150. o. 1. bekezdés): „Másfelől a claudin-7 is szignifikánsan emelkedettebb volt a HCV fertőzött nem-cirrhotikus májokban a HCV fertőzött nemcirrhotikus májához képest. „ Ez nyilván elírás.

Formai szempontból szokatlan volt, hogy a magyar nyelven elkészített műben a legtöbb ábra feliratozása angol – ez azonban nem zavarta a követhetőséget, értékelhetőséget. A rendkívül látványos és demonstratív szövettani ábrák, egyéb ábrák és táblázatok vonatkozásában két kritikai észrevétel.

- 1) Néhány ábra túl kicsire sikerült, emiatt nehezen olvasható róla az üzenet vagy adat (pl. 16., 17., 19., ábra, stb.).
- 2) Szinte valamennyi ábráról/táblázatról hiányolom az esetszám megjelölését, és a számszerűsített értékeknél az átlagok/középértékek, a szórások, a konfidencia intervallumok, a szélsőértékek, és/vagy az alsó-felső kvadráns értékek feltüntetését. Az esetszámok a „III.1. Vizsgált betegcsoportok” fejezetben még visszakereshetők, de a kvantitatív képanalízisek eredményének bemutatásakor jó volna tudni, hány mintából, hány látómező alapján készültek, milyen szórásokat mutattak. Ahogyan a Kaplan-Meier görbéken is jó volna látni, hogy a százalékos értékek konkrétan hány beteget jelentenek. Ezek az információk az értekezés alapját képező közleményekben nyilván megtalálhatók, mégis célszerű lett volna magában az értekezésben, az egyes ábrákon is feltüntetni.

A pályázó tájékozottságát támasztja alá, hogy az értekezés 357 irodalmi hivatkozást tartalmaz, közöttük magyar szerzők közleményeit is. Ez utóbbiak elsősorban szerző és Intézete munkái, ami arra utal, hogy a szakterületen úttörőmunkát végeznek.

## Kérdések

- 1) Volt-e valamilyen pre-szelekciós szempont abban a vonatkozásban, hogy miért éppen a munkában szereplő tight junction alkotórészeket és mikroRNS-eket vizsgálták?
- 2) Van-e arra adat, hogy nem csak a mikroRNS -ek, hanem a primer mikroRNS -ek vagy a pre-mikroRNS-ek is módosíthatják egyes gének expresszióját?
- 3) A vizsgálatok egy része kemoterápia/neoadjuváns kezelés után eltávolított szövetmintákból történt. Megváltoztathatta-e ez az előzetes kezelés a daganat vagy éppen a daganat mellett reszekált ép szövet tight junction alkotórészeinek és/vagy mikroRNS expressziójának a mintázatát?
- 4) Váratlannak tartható, hogy az diszkriminancia analízis alapján az ép epehólyag hámja, az extrahepaticus epeutak hámja és az intrahepaticus epeutak hámja eltérő claudin expressziós mintázatot mutat. Vajon mi okozhatja a különbözőséget?
- 5) A Megbeszélés fejezetben szerző bemutatja, hogy eredményeik néhány vonatkozásban nem mindig egyeznek meg más kutatócsoportok eredményeivel, arra is említ példát, hogy saját korábbi eredményeiktől is eltérést találtak. Mi okozhat ilyen diszkordanciát, illetve hogyan oldható fel az eredményekben mutatkozó alkalmankénti különbözőség?

- 6) Alkalmazzák-e Pathológia Intézetük napi gyakorlatában az általuk megfigyelt claudin-4 expressziós különbözőségeit a hepatocellularis carcinoma és a cholangiocarcinoma differenciáldiagnosztikájában?
- 7) Kutatási eredményei alapján lát-e a szerző lehetőséget a hepatitis C vírus fertőzés megelőzésére és/vagy kezelésére akár a tight junction alkotórészek, akár a mikroRNS -ek útján? Van-e esetleg tudomása ezzel kapcsolatos gyógyszerfejlesztésről?

### **Összefoglaló vélemény**

Dr. Kiss András fenti címmel benyújtott MTA doktori értekezésében a különböző szervek daganatos megbetegedéseinek jellegzetességeit és különbözőségeit mutatja be. A kutatások klinikai indíttatásúak, klinikai jelentőségű kérdésekre keresnek és – számos esetben – adnak választ, új diagnosztikus, prognosztikus, prevenciós és/vagy terápiás modalitások kialakításának hátterét teremtik meg. A daganatos megbetegedések területén végzett kutatások aktualitása, relevanciája, eredetisége nem kérdőjelezhető meg. Az alkalmazott módszerek rendkívül korszerűek, az elért eredmények nemzetközi viszonylatban is újdonságnak számítanak, a diszkusszióban a pályázó reálisan helyezi el eredményeit a kutatási terület más eredményei között, és maga is utal kutatásainak klinikai hasznosíthatóságára.

Jelöltnek a PhD fokozat megszerzése óta végzett kutatásai hiteles adatokat tartalmaznak, jelentős, eredeti tudományos eredményekkel gyarapították az általa művelt tudományterületet, hozzájárultak a tudomány továbbfejlődéséhez. Az előzőekben megfogalmazott kritikai észrevételek és kérdések nem érintik az értekezés lényegét, nem csökkentik a kutatómunka értékét.

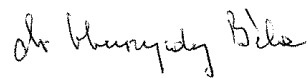
**Az opponens véleménye szerint a doktori értekezés minden szempontból megfelel a nyilvános vitára bocsátás feltételeinek. Mindezek alapján javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását.**

A pályázó jelentős új tudományos eredményének ismerem el az értekezés „Új megállapítások” című fejezetében 1-15. pontba foglalt kutatási eredményeket (184-186. oldal), ezen belül kiemelve az alábbiakat:

- 1) Kimutatta, hogy a normál májhoz képest a cirrhoticus májban emelkedett a claudin-1 és -7 szintje, csakúgy, mint a cirrhosis talaján kialakult HCC-ben, valamint, hogy a kezelés előtt vett tumormintában kimutatott magas miR-224 expresszió szignifikánsan jobb tünetmentes és teljes túléléssel társul HCC-s betegek sorafenib kezelése kapcsán.
- 2) Elsőként igazolta, hogy a humán epeúrendszer különböző szakaszaiból származó biliáris epitheliumban és a cholangiocarcinomákban a claudin-4 erősen expresszálódik, ellentétben a hepatocelluláris carcinomával, ahol nem mutatható ki claudin-4 expresszió, valamint, hogy HCC-ben a cholangiocarcinomákhoz képest alacsonyabb a tricellulin expresszió.
- 3) Kimutatta, hogy a colorectális carcinoma, valamint a pancreas ductalis carcinoma májmetasztázisai és a HCC jellegzetes és egymástól eltérő claudin expressziós mintázatot mutatnak.
- 4) Kimutatta, hogy a normál exocrin pancreas, a hepatocyták és az epeutak sejtjei tricellulint termelnek, míg az endocrin pancreas Langerhans szigetének sejtjei ezt nem expresszálják.

- 5) Elsőként mutatta ki a tricellulin eltérő kifejeződését a fetális és embryonális hepatoblastoma altípusban, és megállapította, hogy a tricellulint magas mértékben termelő hepatoblastoma esetek szignifikánsan jobb teljes túlélést mutatnak az alacsony expresszióval rendelkező tumorokhoz képest, valamint, hogy az epitheliális hepatoblastomában a szubtypustól függetlenül a magas miR-21 vagy az alacsony miR-222 és miR-224 expresszió a betegek szignifikánsan hosszabb teljes túlélésével jár együtt.
- 6) Kimutatta, hogy a krónikus hepatitis C, a krónikus HCV-asszociált steatosis, és a metabolikus eredetű steatosis miR expressziós mintázata jellegzetes különbségeket mutat, valamint, hogy a HCV cirrhosis miatt végzett orthotopikus májtranszplantációt követő HCV rekurrencia, majd az azt követő antivirális kezelés következtében is változik a májsejtekben a miR expressziós mintázat.
- 7) Jellegzetes mintázat-különbségeket mutatott ki az egyes tight junction alkotórészek illetve miR-ek tekintetében számos neoplasticus betegségben, egyebek között a méhnyak, az endometrium, a húgyhólyag különböző folyamataiban.

Kaposvár, 2016. február 04.



Prof. Dr. Hunyady Béla  
egyetemi tanár  
az MTA doktora