

## Birálat

Kiss András „Tight junction alkotórészek és mikro RNS expresszió vizsgálata humán daganatokban, különös tekintettel a májdaganatokra” című MTA doktori pályázatáról.

A daganatos megbetegedések komoly népegészségügyi problémát jelentek, ha azt tekintjük, hogy világszerte évente több millió új esettel és milliós nagyságrendű halálozással kell számolni. A hepatocellularis carcinoma (HCC) évi globális incidenciája pl. 780.000 körüli, és a mortalitása csaknem ugyanennyi.

A daganatok prevenciója, korai diagnosztikája és időbeni kezelése által azonban remélhető javulás az említett mutatókban. Minden olyan kutatás, amely hozzájárul az ilyen kórképek természetének jobb megismeréséhez, alapvető tényezője a várható haladásnak. Kiss András doktori pályázatában szereplő tanulmányok mintaszerűen szolgálják ezeket a célokat.

Az onkoterápia alapja a hisztopatológiai diagnózis, a daganat differenciáltsági fokának és stádiumának meghatározása. Ebben a tevékenységben mára egyre nagyobb szerepet kapnak a *molekuláris biológiai technikák* amelyek további segítséget nyújthatnak az individuális kezelésmódok kiválasztásában, a terápia hatékonyságának a növelésében.

A Jelölt munkássága a fenti kérdéskörrel kapcsolatos, amikor egyrészt a *sejtkapcsoló strukturák alkotórészeit*, másrészt a fehérje termelés szabályozásában szereplő *mikro RNS-ek* (miRNS) *expressziós mintázatát* tanulmányozta hepatobiliaris, pancreas és urogenitális daganatokban. Megfigyelései számos új adattal gazdagították ismereteinket az említett malignomák hisztopatogenezisét illetően.

A pályázat 186 oldal szöveges részt, 357 irodalmi hivatkozást, 118 ábrát, 32 táblázatot tartalmaz. Az értekezés jól áttekinthető szerkezetű, logikus felépítésű, 6 fő részre oszlik, (bevezetés, célkitűzések, anyagok és módszerek, eredmények, megbeszélés, új megállapítások). Az MTA doktori pályázat formai követelményeinek mindenben megfelel, rendkívül gondosan kivitelezett munka.

A fejezetek sorrendjében a tartalmi megállapítások:

I. A **Bevezetésben** vázolja a tanulmányozott *sejtkapcsoló strukturák* (claudinok, ZO-1 fehérje, occludin, tricellulin) alkotórészeinek felépítését és biológiai funkcióját, majd összefoglalja a *mikroRNS-ek* fiziológiai szerepét és jelentőségét. Ezek a rövid ismertetések kitűnő alapot nyújtanak a kutatás céljainak, majd eredményeinek megértéséhez.

A II. fejezetben **Célkitűzéseit** 13 pontban sorolja fel. Az említett *hepato-pancreato-biliaris*, primér és metasztatikus májtumorokban, valamint *urogenitális* daganatokban kívánt választ kapni az adott kórképek hisztogenezisét megvilágító kérdésekre, illetve, hogy a bevezetésben említett *expressziós mintázatok* kaphatnak-e szerepet a daganat diagnosztikában és -terápiában.

A III. **Anyag és módszer** c. részben a *betegcsoportok* ismertetésénél kitűnik, hogy a munkát számos intézettel megvalósult együttműködés tette lehetővé, pl. a vizsgálati anyagminták nyeresét illetően. A *módszereknél* pontosan megadja a vizsgálati anyagminták számát a diagnózisok szerinti megoszlásban. Az alkalmazott eljárásokat - az immunhisztokémiai és IF vizsgálatoktól, a szöveti multiblokk készítésen át, az mRNS izolálás és miRNS expresszióig - olyan pontossággal írja le, hogy ez alapján azok reprodukálhatók.

A IV. **Eredmények** fejezet 111 oldal terjedelmű. A nagy számú, szerteágazó vizsgálati adat áttekinthetőségét, értelmezhetőségét a Jelölt az olvasó számára azzal kívánja segíteni, hogy

több mint száz ábrán, köztük 30 kitűnő színes immunhisztológiai képen, grafikonokon, és számos táblázaton szemlélteti az eredményeket. Mindez nagyra értékelhető és szükséges is, de talán az egyes alfejezetek lezárásaként még hangsúlyozottabb konklúziók sem lettek volna feleslegesek.

Formai kifogásként említhető, hogy több ábrán angol kifejezések maradtak benn.

Az **V. Megbeszélés c. rész** 34 oldalon kiemelkedően értékes fejezete az értekezésnek. Ebben a Jelölt saját megfigyeléseit a nem egyszer ellentmondó irodalmi adatokkal összevetve, kitűnő betekintést nyújt a sejtkapcsoló alkotórészek, valamint a mikroRNS expresszió mintázatok szerepére a tanulmányozott daganatokban. Ezen a téren a Jelölt számos, elismerten új, jelentős felfedezést tett az elmúlt évek során. A pályázat anyagát képező adatok a Jelölt saját kutatómunkája eredményének tekinthetők.

A **VI. fejezetben az Új megállapítások**, a disszertáció anyagát képező **saját publikációk és scientometriai adatok** szerepelnek.

A Jelölt által felsorolt 15 pont kitűnő **összefoglalása** az igen sokrétű tudományos munka eredményeinek, képet ad azok elméleti és gyakorlati jelentőségéről.

A dolgozat alapját képező 15 eredeti közlemény angol nyelvű, nemzetközi folyóiratban megjelent publikáció, összesített impakt faktora 38,488, független citációja 139.

A pályázat végén található irodalomjegyzék 357 hivatkozása tükrözi a Jelölt jártasságát a téma irodalmában.

A bíráló szerint a doktori értekezés **legfontosabb új megállapításai:**

1. Elsőként igazolta HCC-ben a *sorafenib* kezelés előtt vett citológiai minták mikroRNS profiljának prediktív jelentőségét és benne a miR-224 expressziót, mint a túlélés független prediktív faktort.

2 Kimutatta, hogy a cirrhotikus átalakulás a normál májhoz képest a *claudin-1 és -7 szint emelkedésével* jár mind a tumormentes májban, mind pedig az annak talaján kialakult HCC-ben. A claudin-1 fokozott expressziója elősegítheti a HCV reinfekciót és egyben hozzájárulhat a malignus transzformációhoz.

3. Bizonyította, hogy a HCV rekurrencia és vírusellenes terápia változásokat okozott a miRNS expresszióban, beleértve a HCV-receptorok expressziójának lehetséges szabályozóit.

4. Megállapította, hogy az epeútrendszer biliáris epitheliumában és a cholangiocarcinómákban a *claudin-4 erősen expresszálódik*, ezzel szemben a HCC nem mutat claudin-4 expressziót. A claudin-4 immunhisztokémiai kimutatása alkalmas a máj primer daganatainak belül az epeúti rendszer carcinómáinak és a HCC elkülönítésére.

5. A HCC-k a cholangiocarcinómákhoz képest alacsonyabb *tricellulin expressziót* mutatnak. A HCC-k esetében a tumorok differenciáltsága nem mutatott összefüggést a túléléssel, azonban a HCC-k tricellulint magasan expresszáló alcsoportja szignifikánsan rövidebb túléléssel jár.

6. A colorectális carcinoma, valamint a pancreas ductalis carcinoma májmetasztázisai és a HCC-k jellegzetes és egymástól *eltérő claudin expressziós mintázatot* mutatnak. A colorectális carcinoma májmetasztázisai karakterisztikusan erős *occludin és ZO-1* fehérje expresszióval rendelkeznek a negatív HCC-hez képest.

7. A *tricellulint és a claudinokat a fetális és embryonális hepatoblastoma altípusban* elsőként mutatott ki. A hepatoblastomák jobban differenciált fetális komponensében a claudin-1 és a

claudin-2, valamint a tricellulin fehérje expressziója is szignifikánsan magasabb, így ezek az epitheliális hepatoblastoma differenciációs markereinek tekinthetők.

A tricellulint magas mértékben termelő hepatoblastoma esetek szignifikánsan jobb teljes túlélést mutatnak az alacsony expresszióval rendelkező tumorokhoz képest.

8. A claudin-4 és Ki-67 fehérje expresszió szignifikánsan magasabb, míg a claudin-7 expresszió szignifikánsan alacsonyabb a high grade húgyhólyag carcinomákban a low grade tumorokhoz viszonyítva. A húgyhólyag Ta-T1-es stádiumú urotheliális carcinomái esetében a magas claudin-7 fehérje expresszió rövidebb kiújulásmentes túléléssel társul.

#### **Az eredményekkel kapcsolatos megjegyzések és kérdések:**

1) Megerősítésre került-e a cirrhosisban megváltozott *claudin* expresszió felvetett szerepe a HCV fertőzés fenntartásában ?

2) A májtranszplantációt követő *HCV* kiújulás során leírt megváltozott *mikroRNS* expressziós mintázat szerepére fény derült-e az adatok megjelenése óta eltelt időben?

3) Jelenthet-e potenciális célpontot a célzott terápia számára a *claudinok* jellegzetes, tumor-típusonként változó expressziója?

4) A vizsgált *áttétek* esetében mennyiben tekinthető relevánsnak a *primer tumorokkal* való összehasonlítás, amennyiben nem ugyanazon betegek primer tumorairól és ezen primer tumor által képzett áttétről van szó ?

5) Igazolják-e vizsgálatok a *claudinok* expressziójának *microRNS*-ek vagy más jelátviteli utak által történő szabályozását?

6) Megállapítható-e a vizsgált mutatók közül olyan biomarker, amely a *fibrosis progresszióval* F0-tól F4-ig vagyis a cirrhosisig, illetve a tovább a HCC-ig tükrözné a kórfolyamat fokozatos előrehaladását?

#### **Összefoglalva,**

A doktori pályázatra benyújtott munka gondosan tervezett és kivitelezett, magas szintű hisztopatológiai és molekuláris biológiai kutatások eredményeit tartalmazza, számos eredeti megfigyeléssel és értékes irodalmi diszkusszióval. Mindez sok ismerettel gazdagította tudásunkat a sejtkapcsoló struktúrák alkotórészei és a mikroRNS expressziós mintázatok szerepéről a vizsgált emésztőrendszeri és urogenitális daganatokban. Közülük egyes mutatóknak a gyakorlatban történő kiterjedt vizsgálata előrelépést hozhat az onkológiai diagnosztikában, a személyre szabott terápiában és prognózis megítélésben.

A Jelölt kutatási eredményei és azok publikálása színvonalas nemzetközi folyóiratokban, jelentős megfigyelésekkel gyarapították a tudomány szakot, hozzájárultak a tudomány továbbfejlődéséhez.

Javasolom a pályázat nyilvános vitára bocsátását és Kiss András részére az MTA doktori cím odaítélését.

Pécs, 2016. február 16.

Pár Alajos  
MTA doktora