Válasz Dr. Krenács László professzor úrnak az

**„Új módszerek a daganatok genetikai jellegzetességeinek**

**és heterogenitásának vizsgálata (1004-15)”**

című MTA Doktori Értekezésem bírálatára

**Krenács László professzor úr kérdéseire adott válaszaim**

1. *Alkalmas lehet-e a LSC citometria, a c-erb-B2 immunhisztokémiát és a propidium jodid alkalmazását kombinálva, a HER2-amplifikált és 17-es kromoszóma poliploidiát mutató esetek elkülönítésére?*

A DNS tartalom, mint durva genetikai instabilitás egyik jele, és a Her2 immunhisztokémia kombinációja új és ígéretes metodikának számított a 2000-es évek közepén, mivel a nem-tumoros kontroll sejtekhez viszonyítva a kóros emlőrák sejtpopulációk Her2 expressziójának mennyiségi meghatározását tette lehetővé. A DNS-tartalom változása ugyanakkor nem áll szoros kapcsolatban a gén amplifikációjával, ill. megfordítva, a 17q régió amplifikációja önmagában nem elegendő a sejtmagok DNS-tartalmának egzakt módon mérhető fokozódásához (vesztések és nyerések máshol is szép számban előfordulhatnak). Ismert ugyanakkor, hogy a Her2+ emlőrákok genetikailag labilisabbak és progresszióra hajlamosabbak, mint receptor pozitív társaik. Ilyen formán levezetve az LSC módszerrel kimutatott Her2+/aneuploid rákok mindenképpen a ma alkalmazott Her2+ tumor kategóriájába sorolhatók. Saját eseteinkben az LSC pozitivitás és a szövettanilag, ill. FISH-sel meghatározott Her2 státusz szinte tökéletesen egyezett. Sajnálatos, hogy bár az LSC módszer kidolgozása és publikálása után még évekig alkalmazták az eljárást legalább három másik európai laboratóriumban, a megvizsgált esetek rendszeres összevetése és a Her2 immunhisztokémiai score ill. a FISH-alapú génamplifikáció összefüggéseire vonatkozó statisztikai elemzés nem készült.

1. *Milyen módszert alkalmaztak a BRAF V600E mutáció kimutatására Langerhans-sejtes histiocytosisban, ha az 5-10%-os lesionalis sejttartalom esetén nem detektálta a mutáció jelenlétét?*

A BRAF V600E mutáció meghatározása minden LCH esetünkben retrospektíven, archivált paraffinos szövetmintából történt. A vizsgálatok egy része a crista biopsziából származó csontvelő szövethengerre korlátozódott, ezen esetek közül egy alkalommal immunhisztokémiai pozitivitás mellett a BRAF szekvencianalízis nem igazolt mutációt. A csontvelőminta részletes mikroszkópos elemzésekor az LCH kis gócos érintettséget állapítottunk meg, mely a sejtek összesen 5-10%-át tehette ki. Ez a mennyiség – a jellegzetes sejtmorfológiát és sajátos környezetet is figyelembe véve – a metszetben világosan azonosítható. A V600 mutáció kimutatására alkalmazott PCR és kapilláris elektroforézis technológia érzékenysége ugyanakkor valahol a 10-20% sejt- ill. allélkoncentráció körül alakul, ami ezen konkrét esetben nem teljesült. Fontos szempont továbbá, hogy a gócos érintettség eloszlása a mintában nem egyenletes, így felmerül annak a lehetősége is, hogy a DNS-vizsgálatra lemetszett mintarész éppen a nevezettnél is kevesebb daganatszövetet tartalmazott. Általános tanulság, hogy a reprezentatív minta megléte/hiánya alapvetően befolyásolja a daganatszövetből végzett molekuláris vizsgálatok eredményét, a patológiai szempontok tehát ezen a területen nem mellőzhetők. Összefoglalóan a kérdésre azt tudom válaszolni, hogy tanulmányunk során ebben az egyetlen LCH esetben a mutáció DNS-szinten nem került kimutatásra, de mivel a VE1-IHC a többi V600E mutáns mintához hasonlóan meggyőző pozitiv reakciót mutatott, a fenti magyarázatokra alapozva a betegséget a BRAF-mutáns csoportba soroltuk.

1. *A véleménye szerint a csak HPV kimutatásra épülő méhnyakrák szűrésnek van-e létjogosultsága? Ha igen, melyik módszerrel (HPV genom kimutatás, p16, stb.)?*

A humán papillomavírus jelenléte és különböző típusai a cervix szöveti eltéréseivel igen szoros összefüggést mutatnak. A cervixrák kialakulásában a nagyrizikójú HPV törzsek szerepe sokszorosan bizonyított, 2010-ben ezért a felismerésért orvosi Nobel-díjat adtak (Harald zur Hausen és mtsai). A felismerés hatására a klasszikus citológia mellé fokozatosan felzárkóztak a víruskimutatás különféle módszerei is.

Ugyan nem tartom magam szakembernek a nőgyógyászati szűrővizsgálatok terén, hangsúlyozni kell és a kérdés is erre irányul, hogy jelenleg szűrővizsgálatról beszélünk, mely konkrétan a cervixrák korai kimutatására, megelőzésére irányul. A szigorúan vett szakmai (diagnosztikai) probléma mellett tehát olyan tényezőkkel is kell számolni, mint a nagy tömegben végzett vizsgálat, ennek kapcsán az eredmény minőségének a garantálása, az általános hozzáférhetőség, az olcsóság és a minél kevesebb megterhelés a beteg számára.

Technikailag lehetséges, de minimalistának tartom azt a szemléletet, amely a beteg által kezdeményezett célirányos HPV szűrésben véli a megoldást megtalálni. Az egyéb, minor panaszokhoz vezető számos méhnyak elváltozás kiszűrése, valamint a célirányos mintavétel a beteg komplex ellátását és a molekuláris vizsgálatok indokolt esetben történő végzését szolgálja. A szűrővizsgálat technikájának és komplexitásának ugyanakkor csak a pénzügyi háttér szab végső határt, gazdag országokban, magas biztosítással rendelkező betegek esetében szinte kötelező az emelt szintű ráfordítás. Hazánkban is nehéz ellenezni, ha valaki megfelelő fizetség ellenében a legmodernebb technikát pl. folyadék alapú citológiai vizsgálatot és a kapcsolódó teljes molekuláris arzenált is igénybe kívánja venni.

Szerény véleményem szerint a lépcsőzetesen előrehaladó kiszűrési rend (citológia, pozitív esetben visszarendelés, kontroll+HPV, gondozás) biztosítja a vizsgálat alapvető célkitűzését. Ugyanakkor a folyadékalapú mintavétel kapcsán a minta rendelkezésre állásának előnyét a HPV tipizálást igénylő esetekben magam is sokszorosan tapasztaltam, ami a rizikóbesorolás folyamatát lerövidíti. A p16 immuncitokémia elegáns áthidaló megoldásnak tűnik, mellyel sajnos saját tapasztalatom eddig nincs, de megérzésem szerint a HPV genetikai kimutatással nem foglalkozó morfológiai laborokban, megfelelő tapasztalat kialakítása után, jelentős hozzáadott értéket képvisel.

Debrecen, 2016. április 18. Dr. Méhes Gábor