

Tisztelt Professor Úr!

Szeretném megköszönni, hogy a Professor Úr elvállalta értekezésem bírálatát. Őszintén köszönöm a részletes és kedvező véleményt, valamint az elmélyülésre alkalmat adó megjegyzéseket és kérdéseket az MTA doktori értekezésemet illetően. Az alábbiakban a bírálatban meghatározott megjegyzések és kérdések sorrendjében adom meg válaszaimat.

1. kérdés: „Lymphangiogenezis mechanizmusainak és a nyirokerek szerepének vizsgálata kissejtes és nem-kissejtes tüdőrákban”: Érdemi kérdés viszont, hogy az 1-2 táblázatban miért éppen 63 éves kor volt a választott határérték (cut off)? A metszetek kapcsán (p.14) kérdés, hogy az mindig műtéti preparatum, vagy biopsziás anyag is került ide, és ha igen, milyen arányban?

**Válasz: Köszönöm a kérdést. A megfelelő cut-off (vagy kritikus) értékek meghatározására tett módszertani kísérletek már a múlt századok tudományos életének is szerves részét képezték mintegy begyűrűzve nem csak a matematika, a fizika és az analitika, de – közvetve ugyan – a természettudományok és az orvostudományok szakterületére is. Az ideális, cut-off értékek meghatározását célzó módszertani eljárások körül ugyanakkor napjainkban is egy misztikus köd lebeg, mely néha oly sűrű, hogy még a modern biostatistika atyja, Ronald Fisher sem látta át minden esetben. Elég csak a napjainkban széles körben elfogadott p érték értelmezése során alkalmazott küszöbértékre gondolni (0.05), melyet maga Fisher sem tudott pontosan megindokolni matematikai és biostatistikai módszerekkel a „nullhipotézis-elmélet” kidolgozása során [1]. Annak ellenére ugyanakkor, hogy jelenleg nincs egy standard, mindenek felett álló módszer a megfelelő cut-off értékek kiválasztására, léteznek ajánlások, melyek alapul szolgálhatnak ezen küszöbértékek kiválasztásánál. Statisztikai értelemben véve a medián, az átlag vagy a – szenzitivitás és specificitás ötvözéséből származtatott – Youden Index ( $J$ ) használata lehet a megfelelő megoldás. Természetesen, amennyiben rendelkezésünkre áll, törekedni kell a biológiai szempontból is értelmezhető, esetleg már érvényesített küszöbértékek használatára (pl. laborvizsgálatok referencia tartományai). Tekintettel arra, hogy az életkorra vonatkozóan nincs egy széles körben érvényesített cut-off érték, a Bíráló által említett tanulmányokban mi a medián értéket (63 év) használtuk, mint küszöbérték, és ez alapján osztottuk két csoportba a vizsgálatba bevont betegeket. Az, hogy mindkét betegpopulációban 63 év volt a medián életkor csak a véletlen műve. Ami a vizsgált anyagok típusát illeti, az összes szövettani metszet sebészileg rezeált, műtéti mintából származott.**

2. kérdés: Az SCLC esetében a keringő vért vizsgálták. A primaer tumor nyirokrendszer vizsgálatokor a daganaton kívül a locoregionális nyirokcsomót is vizsgálták?

**Válasz: A disszertációban leírtaknak megfelelően, az SCLC-vel diagnosztizált egyének esetén csak a perifériás vérmintákat elemeztük flow cytometriával. Ami az NSCLC betegeket illeti (ahol valóban rendelkezésünkre álltak a sebészileg eltávolított preparátumok), elsősorban a primer tumorokat elemeztük a nyirokrendszer felépítésének tanulmányozása, valamint az angiogén fenotípusok további jellemzése céljából. Ennek ellenére, egyetértünk a Bírálóval, hogy a minimál invazív nyirokcsomó-biopsziák új aranykorában, kiemelten fontos lehet az**



intertumorális heterogenitás vizsgálata. Bár jelen tanulmány során nem nyílt lehetőségünk a primer tumor-metasztázis párok vizsgálatára, egy közelmúltban lezárult munkánk során elemeztük az intertumorális heterogenitás kérdését a neuroendokrin fenotípus függvényében SCLC esetén [2]. Ahogy várható volt, az említett tanulmányban jelentős különbségeket észleltünk génextpressziós szinten a primer tumor és a nyirokcsomó áttét között [2].

3. kérdés: A tanulmány megállapításaiból fakadóan SCLC és talán NSCLC-ben is a klinikai rutin részévé kellene tenni az LVEPC flow cytometriát, és ha igen, ezt megengedhetnénk magunknak?

**Válasz:** A Bíráló helyesen érzékeli, hogy vizsgálataink zöme a napjainkban igen népszerűvé vált transzlációs kutatások égisze alatt valósult meg, azaz célunk minden esetben az alapkutatások és a klinikai kutatások eredményeinek mihamarabbi visszajuttatása a betegellátásba. Eredményeink fényében valóban indokoltnak tartom az LVEPC flow cytometria bevonását a mindennapi gyakorlatba, sőt az angiogén fenotípus (mint kiegészítő prognosztikai faktor) elemzését is szükségesnek tartanám a patológiai diagnózis során. Ugyanakkor, az egyértelmű klinikai haszon mellett, a modern kor társadalma megköveteli a költség- és időhatékonyság figyelembevételét is, ami jelen esetben ez ideig akadályozta eredményeink gyakorlatba ültetését. Egy másik fontos szempont továbbá, eredményeinek prospektív vizsgálatokon történő független igazolása. Bár az elmúlt tizenöt évben, megállapításaink számos hazai-, és nemzetközi kutatás alapját képezte, hasonló módszereken és betegpopuláción még nem igazolták őket. Összességében, eredményeink alkalmasak lehetnek, hogy a mindennapi rutin részévé váljanak, de csakis prospektív érvényesítés után, a költség-, és időhatékonyság szem előtt tartásával.

4. kérdés: „Prognosztikai faktorok mellkasi szoliter fibrózus tumorok esetén”: A VATS és a nyitott műtéteken átesett betegek két össze nem vethető csoportot alkotnak (tumornagyság, dignitás stb.) - így a szövődmenyhányadra stb. utaló szignifikáns különbségre vonatkozó megállapítást figyelmen kívül hagytam, elfogadhatatlan előválogatási torzítás (preselection bias) okán. (pp. 31 és 33). A megbeszélésben a VATS és a nyitott műtét viszonyára tett sommás megállapításokat nem támogatja előzőleg vizsgált adat. Hasonlóan nem szerepel az anyag és módszer részben az itt tárgyalt kísérő tüdőparenchyma resectio sem. Végezetül pedig, és ezt tartom legfontosabbnak: bármely műtét minőségét illetően az eredmény, azaz a mérhető életminőség és a túlélés, illetve a kiújulási hányad kell, hogy szemünk előtt legyen és számítson.

**Válasz:** Egyetérttek a Bírálóval, hogy a különböző szelekciós hibák miatt a VATS és a nyitott műtéten átesett betegek részben összehasonlíthatatlan csoportokat alkotnak. A „mi lett volna, ha” kérdés megválaszolása mindig dilemmát fejez ki mind a tudományos, mind az üzleti kutatások területén, és jelen esetben is tanulmányunk szerves részét képezi. Egyéb tanulmányaink során a „mi lett volna, ha a különböző műtéti eljárással kezelt betegek hasonló klinikopatológiai adatokkal rendelkeztek volna” kérdés értelmezésére és megválaszolására a Rosenbaum és Rubin [3] nevével fémjelzett, becsült részvételi valószínűségeken (más magyar elnevezéssel „hajlandósági együtthatón” vagy eredeti elnevezése szerint „propensity score-on”) alapuló megközelítéseket alkalmazunk. A statisztikai művelet lényege, hogy a betegeket előre jól meghatározott, a műtéti megközelítés kiválasztásánál döntő szerepet játszó paraméterek alapján csoportosítjuk közel homogén csoportokba az alkalmazott műtéti technika szerint. Az így létrejött két különálló csoport hasonlóságot mutat az általunk kiválasztott paraméterek alapján, mintegy minimalizálva ezáltal a szelekciós hibák előfordulásának esélyét. Kiemelendő ugyanakkor, hogy ezen statisztikai módszer csak relatív nagy esetszám esetén alkalmazható, ami jelen esetben, tanulmányunk multicentrikus mivolta ellenére sem állt rendelkezésünkre. A sebész úgy tekint a műtét minőségét tükröző és azt hűen



reprezentáló eredményekre, mint szobrászművész a szobrára, vagy – ahogy a Bíráló is említette – festőművész a festményre. Ugyanakkor esetünkben, a műtét eredményességét jellemző változók multifaktoriálisak, és sokszor nehezen követhetők. Tanulmányunk egyik erőssége annak multicentrikus jellege. A betegek pontos követése, és ezáltal a műtét hosszútávú sikerességének ellenőrzése viszont éppen ezen multicentrikus jellegnek vált áldozatául, tekintve, hogy nem tudtuk kivitelezni a műtéten átesett betegek rendszeres ellenőrzését a Bíráló által is felsorolt hosszútávú eredmények értékelése reményében.

5. kérdés: Miközben az anamnesztikus adatok között a dohányzást vizsgálták, kimaradt olyan fontos elem, mint az azbeszt vagy más mikrokristály, mint noxa.

**Válasz:** Az azbeszt expozíció, valamint a mikrokristályok jelenléte valóban kiemelt fontosságú mellkasi daganatok, kiváltképpen a pleura daganatai esetén. Tanulmányunk retrospektív jellegéből adódóan viszont nem állt rendelkezésünkre erre vonatkozó adat és eddigi tapasztalataink szerint ezen adatok pótlása sokszor még prospektív adatgyűjtések alkalmával is nehézségekbe ütközik. Sajnálatos módon ugyanis sok esetben még az adott beteg sincs tisztában az esetleges expozíció tényével, és – ami talán még ennél is fontosabb – annak mértékével, illetve időtartamával.

6. kérdés: A fibrinogen prognosztikus szerepe kétségen felül bizonyított. Kérdésem, hogy a kései halálok közötti mekkora volt a thromboemboliás események szerepe.

**Válasz:** Habár vizsgálatainkban a fibrinogén, mint gyulladási marker szerepét elemeztük szoliter fibrózus tumorok esetén, jogos a Bíráló felvetése ugyanis köztudott, hogy a magas fibrinogén növeli a thromboemboliás események, kiváltképpen a tüdőembólia előfordulási valószínűségét is [4]. Tanulmányunk során nem adatott lehetőség a konkrét halálok vizsgálatára, hiszen a túlélésre vonatkozó adatokat az adott intézmény és/vagy ország statisztikai hivatala szolgáltatotta, a halál pontos okának megjelölése nélkül. Ugyanakkor, tekintettel arra, hogy a magas preoperatív fibrinogén érték összefüggést mutatott mind a tumor mérettel, mind az előrehaladott de Perrot stádiummal, úgy gondoljuk, hogy ezen betegek korábbi elhalálása valóban az agresszívabb tumor fenotípusnak tulajdonítható, mintsem kései thromboemboliás eseménynek. Mindezeket figyelembe véve, javallott a magas fibrinogén értékkel rendelkező betegek szorosabb követése.

7. kérdés: "A primaer tüdő adenocarcinoma lokalizációjának hatása az áttétek elhelyezkedésére és mintázatára vonatkozóan": Az anyag és a módszer részben a többközpontú tanulmányban részvevő másik három intézet anonimizálása annál is inkább kérdéses, mert a többi fejezetben tudjuk a társintézményeket. Az alapcikk ilyen irányú bővítése célszerű lett volna. Az előbb követett gyakorlat a helyes megoldás, itt hiányérzete marad az olvasónak.

**Válasz:** Köszönöm az észrevételt. Az Intézmények megnevezésének mellőzése kizárólag a tömörségre való törekvés miatt történt jelen disszertációban, valamint az alapcikkben egyaránt. Ezt pótolandó, az alábbiakban nevesítem a vizsgálatban résztvevő Intézeteket, és az előadásban is felsorolom azok megnevezését: Országos Korányi Pulmonológiai Intézet (Budapest), Pulmonológiai Klinika - Semmelweis Egyetem (Budapest), Tüdőgyógyintézet Törökbálint (Törökbálint), Debreceni Egyetem Klinikai Központ (Debrecen), Fejér Megyei Szent György Kórház (Székesfehérvár).

8. kérdés: Ami a perifériás localisatiójú tumorok intraparenchymalis metastasis hajlamát illeti, felmerül a kérdés, hogy nem eleve multifocalis tumorokról van-e szó, melyek az észlelési küszöböt különböző időpontokban lépik át. Mivel cáfolná ezt a feltevést?



**Válasz:** Köszönöm az izgalmas kérdést. A különböző áttétek időrendi diagnózisa, valamint az intraparenchymalis metasztázisok elkülönítése a primer daganatoktól valóban kihívás elé állította munkacsoportunkat. Természetesen, teljes biztonsággal nem jelenthető ki a tüdőáttétek *valódi metasztázis* volta (ez ugyanis csak szövettani verifikáció után lehetséges), de a klinikai kép és a radiológiai lelet alapján legtöbbször felállítható egy valószínűsített diagnózis. A kérdés eldöntésében mi a radiológus kollégák több évtizedes szakmai tapasztalatára hagyatkoztunk, akik lehetőség szerint több, egymást kiegészítő képalkotó vizsgálatot is elemeztek. Egy másik fontos szempont, mely alapján a tüdőáttétekre vonatkozó megállapításainkat érvényesnek gondoljuk az a kiemelkedően nagy esetszám. Ilyen és ekkora esetszám mellett az esetleges – radiológus kollégák által ki nem szűrt – fals pozitív esetek torzító hatása eltörpül és a kapott eredmények közelednek a valósághoz. Hangsúlyozandó, hogy éppen ezen okból kifolyólag (illetve a mikrometasztázisok okozta alul-diagnosztizálás torzító hatásának kivédése érdekében) döntöttünk a tanulmányunk multicentrikus kibővítése, és ezáltal az esetszám drasztikus növelése mellett.

9. kérdés: „Az apelin expresszió szerepe nem kissejtes tüdődaganatok angiogenezisében és prognózisában”: Az opponensi kérdés itt az, hogy – lévén a tanulmány 2010-es – hogy látja a jelölt az eltelt 11 év tükrében az akkori megállapítások relevanciáját, ma milyen konklúziót vonna le?

**Válasz:** Az idő múlásával mindig izgalmas, ugyanakkor valamilyen szinten gondolatébresztő is visszatekinteni a múltbéli események láncolatára, felidézve ezáltal az akkori énünk jellemét, gondolatait és reményeit. Tíz év távlatából valamilyen szinten megnyugvással tölti el ezen sorok szerzőjét, hogy az akkor befektetett munka nem volt hiábavaló és megállapításaink nem veszttek el a feledés homályába, hiszen eredményeink azóta számos nemzetközi tanulmány alapjául szolgáltak. Természetesen, akkori megállapításaink a célzott terápiák aranykorában, azaz napjainkban is aktuálisak és relevánsak, hiszen a klasszikus érképződésgátló gyógyszerek (tirozin-kináz-inhibitorok és VEGF-jelűtgátlók) széles körben történő elterjedése rávilágított egy igen jelentős problémára: a terápia-rezisztens esetek megjelenésére. Mindezek fényében ismételten felértékelődött az apelin, mint alternatív angiogén faktor szerepe. Több tanulmány is kimutatta, hogy magas apelin expresszióval rendelkező daganatok esetén lényegesen alacsonyabb mind a bevacizumab, mind a nintedanib terápiás hatékonysága, mint az apelint kisebb mértékben expresszáló daganatoknál [5, 6]. Ennek megfelelően, megjelentek a kísérletes apelin-inhibitorok, melyek alkalmazása megoldásul szolgálhat a magas apelin expresszió okozta terápia-rezisztens esetekben. Ezt igazolandó, egy friss tanulmány kimutatta, hogy magas apelin expresszióval rendelkező tumorok esetén lényegesen jobb eredmények érhetőek el, ha a nintedanibot egy apelin-inhibitorral kombinálva alkalmazzák, mint nintedanib monoterápia esetén [5]. Hangsúlyozandó, hogy munkacsoportunk az elmúlt időszak alatt is aktív szerepet vállalt az apelin-mediálta angiogenezis és az ezzel kapcsolatos terápiás lehetőségek feltérképezése terén. Egy nemrég megjelenő közleményünk, melyben az MM54 apelin-inhibitor terápiás hatékonyságát vizsgáltuk és igazoltuk magas apelin expresszió esetén, épp az eredeti 2010-es tanulmány megállapításait vette alapul a hipotézisek megfogalmazásakor [7].

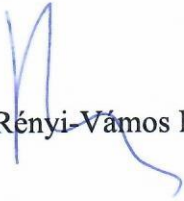
Köszönöm az általános kritikai megjegyzéseket és az észrevételeket az eredmények bemutatása során felmerülő hiányosságokra vonatkozóan. Ezeket az előadásban próbálok/tam meg megfelelő részletességgel pótolni.

Végül ismételten köszönöm Molnár F. Tamás Professzor Úrnak értekezésem bírálatát, építő kritikáját és támogató gondolatait. Tisztelettel kérem válaszaim elfogadására.



Köszönöm, hogy a Professor Úr alkalmasnak tartja értekezésem nyilvános vitára tűzését, javasolja disszertációm elfogadását és számomra az MTA Doktora cím odaítélését.

Tisztelettel:



Prof. Dr. Rényi-Vámos Ferenc

Budapest, 2021. október. 14

### **Felhasznált irodalom**

1. Brereton, RG. P values and Ronald Fisher. *Journal of Chemometrics*. 2020;e3239. <https://doi.org/10.1002/cem.3239>
2. Lohinai Z, Megyesfalvi Z, Suda K, et al. Comparative expression analysis in small cell lung carcinoma reveals neuroendocrine pattern change in primary tumor versus lymph node metastases. *Transl Lung Cancer Res*. 2019;8(6):938-950. doi:10.21037/tlcr.2019.11.30
3. Rosenbaum PR., Rubin DB., The central role of the propensity score in observational studies for causal effects. *Biometrika* 1983;70(1): 41-55
4. Klovaite J, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Benn M. Elevated fibrinogen levels are associated with risk of pulmonary embolism, but not with deep venous thrombosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(3):286-293. doi:10.1164/rccm.201207-1232OC
5. Uribealgo I, Hoffmann D, Zhang Y, et al. Apelin inhibition prevents resistance and metastasis associated with anti-angiogenic therapy. *EMBO Mol Med*. 2019;11(8):e9266. doi:10.15252/emmm.201809266
6. Zuurbier L, Rahman A, Cordes M, et al. Apelin: A putative novel predictive biomarker for bevacizumab response in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017;8(26):42949-42961. doi:10.18632/oncotarget.17306
7. Berta J, Török S, Tárnoki-Zách J, et al. Apelin promotes blood and lymph vessel formation and the growth of melanoma lung metastasis. *Sci Rep*. 2021;11(1):5798. Published 2021 Mar 11. doi:10.1038/s41598-021-85162-0