

# Opponensi vélemény

Dr. Sebestyén Anna:

Jelátviteli zavaroktól az onkometabolizmusig – daganatsejtek bionergetikai alkalmazkodása

című MTA doktori értekezéséről

## Formai értékelés:

A magyar nyelvű MTA doktori értekezés 195 számozott oldalból áll: Címlap és Tartalomjegyzék, (1-7. oldal), Bevezetés (9-46. oldal), Célkitűzések (47-48. oldal), Módszerek (49-66. oldal), Eredmények (67-134. oldal), Megbeszélés (135-144. oldal), Eredmények összefoglalása (145-149. oldal), Tézisek rövid összefoglalása (151. oldal), Köszönetnyilvánítás (153. oldal), Irodalomjegyzék 467 hivatkozással (154-181. oldal), Értekezés vonatkozásában releváns saját közlemények jegyzéke (183-188. oldal), Tudománymetriai adatok (189. oldal) és Rövidítésjegyzék (191-195. oldal). A doktori mű tartalmának jobb és könnyebb megértését, az eredmények áttekinthetőségét 76 ábra és 13 táblázat segíti.

Az értekezés alapjául szolgáló angol nyelvű tudományos közlemények száma 24 (első és utolsó szerzőként 18). Az értekezés témájában megjelent további közleményeinek száma 27 (első és utolsó szerzőként 13), az értekezés témájában megjelent könyvfejezeteinek száma 4 (mind elsőszerezős). Összesített hivatkozás a doktori mű lezárásának időpontjában az MTMT szerint 965, Hirsch index 19, g index 28. A benyújtott MTA Doktori Értekezés tartalmi és formai szempontból megfelel az MTA doktori értekezésekkel szemben támasztott követelményeinek, szerkezete jól tagolt, könnyen áttekinthető.

Stílusa általában választékos és a fogalmazás világos. Néhol azonban lehetett volna még pontosabb, írott szaknyelvi és nem beszélt köznyelvi kifejezéseket alkalmazó (pl: 'ilyenkor azért nem kis kihívást jelent' - 28. oldal).

Nyelvtani hiba vagy elírás több helyen előfordul és a magyar, ill. latin írásmód a szakszavak esetében nem egységes (pl.: hypoxia / hipoxia; glikolitikus / glikolítikus; pseudo / pszeudo), gyakran egy szón belül sem (például: carbamil-foszfotranszferáz; pseudohipoxia). Elütések kis számban előfordulnak (pl: gliolastoma, 27. oldal alján; különbségek, 48. oldal; ...festések, 128. oldal; fentotípus, 133. oldal; transzplatáció, 146. oldal; pályázatainak, 153. oldal; Tóth, 185. oldal; csíráköpont, 192. oldal; lymphangioleiomatosis, 193. oldal).

Helyenként 'stiláris anglicizmus' jelentkezik (pl: 'A modelleknek összehasonlító vizsgálatával azokat az elsősorban metabolikus különbségeket határozhatjuk meg, amelyek az eddigi nem túl hatékony *in vitro* teszt rendszerekben elhanyagolásra kerültek.' - 46. oldal).

Kissé gyakran mutatkozik indokolatlan fokozás ('legérdekesebb', 'legszemléletesebb', 'legszélesebb körben', 'legkülönbözőbb', 'rendkívül magas'), ami tükrözi a Jelölt elhivatott lelkesedését a téma és munkája iránt, de tudományos írásműben visszafogottabb jelzők a szokásosak.

Az Irodalomjegyzék nem egységes formátumú (pl. #37, #38 dőlt betűs része; az oldalszámok megadása pl. #14 és #17; XI. lista nem sorszámozott; a 4. könyvfejezet esetében nem indokolt a keresztnév kiírása).

A Rövidítésjegyzék értekezések esetében általában a Tartalomjegyzék előtt vagy után szokott szerepelni, nem pedig utolsó fejezetként. Ez azonban így is elfogadható és nem tekinthető formai hibának. A ChI esetén nem szükséges kiírni a funkciót. Az OS és OVS ugyanazt jelöli, egyik is elég lett volna, magyarul meghatározva. A hTERT kiírva nem illeszkedik pontosan a hasábkézdéshez.

### **Tartalmi értékelés:**

A TGF-béta és Notch jelátviteli útvonalak hibás működése a tumorképződés fontos tényezője, noha tumortípustól függően eltéréseket mutathatnak. A Jelölt az mTOR hiperaktivitás az ezzel összefüggő molekuláris eltéréseket több, mint 20 éve vizsgálja, különös tekintettel az mTOR kináz C1 és C2 komplexeknek a jelátviteli hálózatban csomóponti szabályozóként kifejtett szerepét. E komplexek mintegy összegezik a sejt belső állapotáról és a környezetből származó információkat majd szabályozóként a tumorokban (is) kihatnak a sejtproliferáció folyamataira. Több tumortípusban elsőként jellemezte a Jelölt az mTORC1 és mTORC2 komplexek aktivitásait, daganatbiológiai szerepét. Ezek jelentőségét adott daganattípusok bioenergetikai változásaiban is kutatta, mivel fontos tényező a tumorsejtek bioenergetikai változása és alkalmazkodása. Ez az értekezés egyik központi témája.

### **A fentiekkel összefüggésben, az Értekezésben bemutatott kutatások nyolc célkitűzés vonalán történtek:**

1. Mevastatin, illetve immunszuppresszív kezelések indukálta apoptózis mechanizmusának vizsgálata lymphoma és leukémia sejtvonalakban
2. Az immunszuppresszió és a tumorigenezis összefüggéseinek vizsgálata
3. A Notch expresszió és aktivitás változás szerepének vizsgálata leukémia és lymphoma sejtek proliferációjában, túlélésében
4. TGF-béta indukált apoptózis, TGF-béta rezisztencia hátterének, érzékenyítés lehetőségének vizsgálata leukémia és lymphoma sejtekben
5. Az mTOR aktivitás változások proliferációs és tumornövekedést segítő daganatbiológiai szerepének vizsgálata, a) különböző lymphoma típusokban és a gyermekkori akut lymphoid leukémiákban; b) mTOR aktivitás, mint potenciális target jellemzése szolid daganatokban; az mTOR aktivitással összefüggő bioenergetikai szubsztrát hasznosítás és metabolikus változások vizsgálata *in vitro* és *in vivo*
6. Az mTOR aktivitás és a szöveti metabolikus adaptáció szerepének térképezése egyes szolid daganatok progressiójában
7. A bioenergetikai alkalmazkodás, metabolikus plaszticitás gátlásának vizsgálata mTOR és metabolikus gátlószer kombinációk *in vitro* és *in vivo* hatásaiban
8. *In vitro* és *in vivo* metabolikus különbségek vizsgálata, olyan *in vitro* rendszerek fejlesztése és összehasonlító vizsgálata, amelyek a 3D szövettenyésztésre és bionyomtatásra alapozva segítik az *in situ* helyzetek modellezését

**Az értekezés alapjául szolgáló kutatómunka eredményei és megállapításai közül az alábbi tézisek elfogadását javaslom új tudományos eredményként:**

- 1) A mevastatin myeloma sejtek proliferációját gátló és apoptózis indukáló hatású
- 2) Az mTORC2 (hiper)aktivitás szignifikáns mértékben emelkedik poszttranszplantációs vesedaganatokban
- 3) Hodgkin lymphomákban jelentős konstitutív NOTCH1 szignálaktivitás van, mint potenciális rapamycin + gamma-szekretáz inhibitor (DAPT) target
- 4) A TGF- $\beta$  indukált apoptózis mechanizmusában az alternatív, Smad független jelátviteli útvonal, azon belül a PP2A aktiváció és ezzel összefüggésben a MAPK kináz útvonal, illetve a PI3K/Akt/mTOR útvonal gátlásának fontos szerepe van
- 5) A különböző lymphoma típusok és a gyermekkori akut lymphoid leukémiák mTOR aktivitásában a magasabb mTOR aktivitás, illetve mTORC2 aktivitás rossz prognózissal függ össze
- 6) A diagnóziskor várható progresszió megítélésében az mTOR aktivitás mértéke, illetve azzal összefüggésben egyes miRNS-ek expressziós különbségei (pl. miR128b) is felhasználhatók gyermekkori akut lymphoid leukémiákban
- 7) Az mTORC2 komplex aktivitás, Rictor overexpresszió összefügg a rossz prognózissal humán coloncarcinomában
- 8) Primer tüdő adenocarcinomák és agyi metasztázisai esetében a magas p-mTOR H-score, illetve magas Rictor H-score (azaz mTORC2 aktivitás) az agyi metasztázisokra jellemzőbb, illetve a később metasztázist adó primer daganatokban is szignifikánsan magasabb
- 9) Az IDH mutáció az mTOR aktivitás révén a 2-HG onkometabolit termelésben is szerepet játszik
- 10) A gliomák speciális GABA hasznosítása proliferáció fokozó hatású
- 11) Emlődaganatokban a Warburg fenotípus inkább a HR- daganatok, illetve a rosszabb prognózisú Her2+ és TN daganatok jellemzője
- 12) A rapamycin+doxycycline, illetve a doxycycline+temozolomide kombináció szignifikánsan csökkenti a glioma sejtek a túlélését és gátolja a proliferációjukat *in vitro*

**Specifikus megjegyzéseim és kérdéseim:**

1. 13. oldal (p13): A TGF- $\beta$  hatás csendesítése valóban terápiásan releváns lehet, erre számos *in vitro* és *in vivo* kísérletes adat, preklinikai vizsgálati modell eredménye is utal. Ugyanakkor, a célzott ('on-target') anti-TGF- $\beta$  terápiák nem igazán sikeresek a humán klinikai onkológiai alkalmazásban. Mi lehet ennek az oka, melyek a fő megválaszolandó kérdések?
2. Mi a véleménye az antisense oligonucleotid (ASO) terápiás alkalmazhatóságáról, különös tekintettel a TGF- $\beta$  transzláció (és expresszió) gátlása vonatkozásában?
3. Az epithelialis-mesenchymalis transitio (EMT) valamint a mesenchymalis-epithelialis transitio (MET) jelentős az áttétképződésben, tumor progresszióban és szorosan összefügg a TGF- $\beta$  és mTOR szignalizációs útvonallal, mint ezt a Jelölt értekezésében kifejti. Milyen jelentősége van e folyamatoknak a progresszióban a nem klasszikus epithelialis, hanem neuroepithelialis idegrendszeri tumorok esetében? Az EMT szerepét más idegrendszeri daganatok, pl. medulloblastoma esetén is kimutatták. Mennyire bizakodhatunk, hogy az EMT és MET reverzibilisnek tartott folyamatait agydaganatok esetében sikeresen manipuláljuk terápiás céllal?
4. p18: '...egyelőre olyan gátlószer még nem áll rendelkezésre, amely kizárólag az mTORC2 hatásait befolyásolná' – állítja a Jelölt. Ezzel szemben Werfel TA *et al.* közleménye (Cancer Res,

- 2018) a nanoparticulum-alapú Rictor-gátlás kedvező hatásáról számol be Her-2 amplifikált sejtek esetén, kísérletes modellben.
5. Az mTOR gátló Rapalink-1 agyi iszkémia modellben infarktus-növekedést, vér-agy gát (BBB) károsodást okozott egy friss közlemény szerint (Chi OZ *et al.*, *Frontiers in Physiology*, 2021), mely az értekezést követően jelent meg. Ennek kapcsán kérdezem, hogy a Rapalink-1 BBB-t megnyitó hatása alacsonyabb (de még remélhetőleg terápiásan hatékony) dózis esetén akár kedvező is lehet agyi tumorok esetén?
  6. p25: Neurodegeneratív betegségek kezelésében is szerepe lehet az mTOR útvonal befolyásolásának. Szükség lehet szelektív mTORC1 ill. mTORC2 szelektív befolyásolására, különös tekintettel az inzulin szignalizáció (az mTORC2 és Akt érintett ebben) és autofágia kapcsolatára neurodegenerációban?
  7. p27, 9. ábra: Lehetett volna itt referenciát is megadni?
  8. p32: Hol tart jelenleg a harmadik generációs mTOR gátlók (Rapalink-1) terápiás alkalmazása?
  9. p41: *TP53* a p53 fehérjét kódoló gén hivatalos neve (és nem *P53*)
  10. p43: A tüdőrák klasszifikáció pontosítandó: a nagysejtes neuroendocrin carcinoma (LCNEC) a nagysejtes carcinoma (LCC) egyik altípusa (a WHO osztályozás szerint).
  11. p44: A tripla negatív emlőrák (TNBC) terápiájában az értekezés beadása ('a tripla negatív csoportban az új terápiás sikerek még egyelőre elmaradnak') óta jelentős előrelépés, reménykeltő eredmények születtek. Kérem, hogy ismertesse ezeket röviden (pl. antitest-drug konjugátum alkalmazása / Trodelvy; chemo-immunoterápia).
  12. p44: 'A központi idegrendszer (KIR) daganatai ritkák, de rendkívül rossz prognózisúak' – javaslom ezt a nagyon általánosító megjegyzést pontosítani (pl: A KIR daganatok a 2. leggyakoribb gyermekkori malignus tumorok a haematológiai neoplasiák után; számos jó prognózisú KIR tumor van).
  13. p46: Panoramic (nem 'Panoramic') (a 118. oldalon is)
  14. p68: A statinok antitumorális hatása kapcsán kérdezem, hogy ez milyen más daganatokban ismert és klinikailag tesztelt? Miért nem szélesebb körben alkalmazott kezelés? Lehet tumor-preventív szerepe is? Mik a statinok lehetséges terápiás targetjei rákok esetében? Vajon mekkora dózis lehet antitumorálisan is hatékony (ugyanis tartós magas dózisú statin kezelésnek a mellékhatásai is számottevőek)?
  15. p72: Histoscore: Óvatosság indokolt, mert az intenzitás mértéke és fehérjetartalom között nincs egyenesen arányos kapcsolat DAB chromogén alkalmazása esetén (immunfluoreszcens vizsgálat esetén sokkal inkább).
  16. p94, 11. Táblázat: Gyerekek esetében megfelelőbb a 'lány' és 'fiú' (nem nő és férfi) megnevezés.
  17. p98: A szöveti microarray (TMA) esetén a regionalis heterogenitás sokkal kevésbé értékelhető, mint teljes metszet vizsgálata esetén. Ez mennyiben befolyásolhatta az eredményeket?
  18. p99: 44. ábra: 20x bizonyára a mikroszkóp objektív nagyítása, a teljes eredeti nagyítás valószínűleg 200x. 'Scale bar' alkalmazása jobb lett volna, más ábrák esetében is (pl. 51.).
  19. p103: Agyi áttétek: Az mTOR inhibitorok BBB-n átjutásáról vannak irodalmi adatok? Teljes agyi besugárzás (WBRT) után jobban átjutnak ezen hatóanyagok? A szelektív inhibitor (mTORC2) BBB-re kifejtett hatásáról a Megjegyzést lsd. fentebb.
  20. p113: Miért kevésbé agresszív az IDH1 mutáns gliális tumor, mint a vad típusú? Van ennek bioenergetikai oka/aspektusa?
  21. p113: Lehetne (a jövőbeni vizsgálatok során) próbálni a betegből glioma sejtenyészetet létrehozni – ez a személyre szabott medicina lehetőségét is elősegítené.
  22. p123, 2. sor: Melyik publikáció kapcsolatos a PhD hallgató munkájával (mert a hivatkozott ref. 377-381 valószínűleg nem)?

23. p124: Az alacsony esetszámmal végzett vizsgálatokban vannak azóta újabb eredmények (nagyobb esetszámmal)?
24. p128: Dicséretes, hogy a 68. ábrán van 'scale bar'.
25. p132 (IV. 6. fejezet): Lehetett volna részletesebb ez a fontos és érdekes fejezet.
26. p133, 72. ábra: Részletesebb ábraleírás jobb lett volna.
27. p135: A Megbeszélés meglehetősen rövid. Itt lehetett volna a közös szádra még jobban felfűzni a kísérletes és humán eredményeket.
28. p135: A *TP53* mutatio (és nem *P53*) és statin szenzitivitás kapcsolata kicsit részletesebben kifejtve hasznos és érdekes lenne.
29. p136, 1. sor: Pontosan milyen 'epitheloid daganat'-ra utal a Jelölt?
30. p136: '...a betegek egyéni metabolikus jellegzetességei nagyban befolyásolhatják a terápia mellékhatásainak tolerálhatóságát'. Javaslom ezt a fontos kérdést kicsit részletesebben kifejtetni.
31. Az agyban vajon miért olyan gyakori a tüdő és emlő carcinoma áttéte? A Jelölt kutatásai a kérdés megválaszolásához mennyiben járulhatnak hozzá?

### **Összegzés:**

Az értekezés tartalmilag kimagasló minőségű és formailag is jó. Az pályázó habitusa valamint az eredmények megfelelnek az MTA doktori fokozat követelményeinek, ezért a nyilvános védés kitűzését és sikeres védés esetén a fokozat odaítélését javaslom.

Nagyrabecsülésem a Jelölt iránt, hogy négygyermekes családként évtizedek óta nemzetközileg is kiváló kutatómunkát, iskolateremtő tevékenységet folytat. Kívánok sok erőt és jó egészséget mindehhez a jövőben is!

Szeged, 2021. október 29.



Dr. Hortobágyi Tibor *FRCPath*  
egyetemi tanár, az MTA doktora