

Válasz Prof.Dr Kovalszky Ilona

„Előrelépések melanómában” doktori értekezésre adott **véleményére**

Tisztelt Professor Asszony!

köszönöm, hogy részletesen elemezte disszertációmat, megjegyzéseivel és javaslataival elősegítette a téma pontos értelmezését, hozzájárult az érthető és világos interpretációhoz.

Köszönöm, hogy az alábbi új eredményeket elfogadta:

1. 2001 és 2019 között Magyarországon a melanóma incidenciája kétszeresére nőtt, ugyanakkor a mortalitás lényegileg nem változott.
2. Az Országos Onkológiai Intézet melanomás beteganyaga alapján 1998. évhez képest 2008-ban a betegek Breslow-értéke csökkent, mely jelenség a szekunder prevenció térnyerését jelzi.
3. A vizsgált beteganyag esetén a szentinel nyirokcsomó pozitivitása és a molekuláris státusz között nem volt összefüggés, ugyanakkor a Breslow-értékkel egyértelmű volt a kapcsolat. Az NRAS mutáció bizonyult a legrosszabb prognózisú molekuláris altípusnak.
4. Az ipilimumab terápia várható hatékonyságát a legjobban az LDH mutatja. Ugyanakkor az alkalmazott gyógyszerdózis is befolyásolta a betegek túlélését, illetve az autoimmun mellékhatások gyakoriságát.
5. Az anti-PD1 stratégia mellett az autoimmun mellékhatások megjelenése jobb túléléssel társult.

A 4. ábra a European Cancer Information System adatait keveri a saját elemzések alapján kapott mérőszámokkal, ami az ábraalírásból egyáltalán nem, és a törzsszövegből is csak részlegesen derül ki.

A mellékelt ábra valóban nemzetközi adatokat tartalmaz magyar kutatási eredményünkkel ötvözve. Ugyanakkor a nemzetközi adatok korszpecifikus incidencia és mortalitási rátát tartalmaznak, ami mivel 100.000 főre van vetítve, a mi adatainkkal teljes mértékben összevethető. Azaz, bármely ország adott korcsoportjának pl. az 50-59 kohortnak a 100.000 főre vetített incidencia rátája megmondja, hogy hány melanomás beteg van az adott

korcsoportban 100.000 főre számítva. Ezáltal ezek az adatok így konvertálhatóak, összevethetőek. A korszpecifikus ráta éppen ezt hivatott meghatározni. Mindamellett az összevetés célja részben az is volt, hogy az általunk talált értékek validitását igazoljuk, vagyis, hogy a felhasznált módszertan alapján megszületett eredmények azonos mértékű incidenciát és mortalitást mutatnak a régióban, mint a magyar kutatásunk eredményei.

A szerző a 44. oldalon említést tesz az egyes országok egészségügyre fordított kiadásai és a melanóma MIR (mortalitás-incidencia arány) közötti összefüggésre, melyet a 6. ábra demonstrál, azonban ennek aláírása nem egyértelmű. Ugyanitt kiemeli, hogy mivel Magyarország és Csehország hasonló (melanómás) MIR érték mellett más országoknál kevesebbet fordít az egészségügyre, ezért ezekben az országokban az onkológiai ellátás finanszírozása arányaiban kiemelt fontosságú – ez eléggé elhamarkodott kijelentés, tekintve, hogy a szerző nemhogy nem prezentálta, de az értekezés szerint nem is vizsgálta sem a teljes onkológiára vonatkozó finanszírozási adatokat, sem a melanómán kívüli tumorokra vonatkozó MIR értékeket.

A 6. ábra magyarázatául azt tudom megadni, hogy Magyarország és Csehország azért van külön szimbólummal értékelve, mert azt kívántuk hangsúlyozni, hogy a trendvonalaknak megfelelően a magyar MIR értékek harmonizálnak az európai országok MIR értékeivel (ezek kék és narancssárga pontokkal kerültek feltüntetésre) az adatokat az 5. ábra részletezi szemléletesebb formában) melanoma vonatkozásában.

Valóban nem prezentáltuk az egyéb tumorokkal kapcsolatos MIR értékeket és egészségügyi kiadásokat, de társszerzőink (Kiss Z, Várnai M, Vokó Z) munkái kiterjednek egyéb tumorok analízisére is, akik a fenti megállapítást alátámasztották, ez befolyásolt a kifogásolt megállapításban, valamint az is, hogy melanómában tételes finanszírozásra csak első vonalban kerülhet sor, illetve a betegek kisebb szegmensénél megfelelő feltételek esetén másodvonalbeli innovatív terápia lehetséges. Ez messze elmarad egyéb tumorok finanszírozásától, mégis kedvezőek a megállapítható onkológiai mérőszámok.

Mindazonáltal egyetértünk azzal, hogy a megállapítás nem került magyarázatra, helyesebb lett volna a melanoma finanszírozására korlátozni a következtetést.

A 48. oldaltól, a Dermatoonkológiai Osztály 1998-as és 2008-as melanómás beteganyaga kerül összevetésre. A sorozatos ábrák helyett némiképp szerencsésebb lett volna egy, a fontosabb klinikopatológiai paramétereket összefoglaló táblázat közlése. A 49. oldalon utalás történik a különböző altípusok nemi eloszlásbeli különbségére, azonban erre vonatkozó adatok nem kerültek bemutatásra.

A nemeket tekintve férfiaknál mindkét vizsgált évben a törzs, 33 (51%); 102 (55%), nőknél pedig az alsó végtag, 31 (36%) és 65 (34%) volt a leggyakoribb lokalizáció. Az eloszlás különbsége mindkét évben szignifikáns volt ($p=0,013$; $p=0,000$).

Az őrszem nyirokcsomókat célzó, 850 esetet felvonultató vizsgálat során a szentinel pozitív és negatív betegek fontosabb prognosztikus paramétereit elemezték, azonban a 6. táblázatból fájóan hiányoznak a statisztikai eredmények. Ugyanakkor nem világos, hogy a multivariációs analízisek során mikor milyen paramétereket vontak be, illetve zártak ki (7-9. táblázat). A 7. táblázat leírásában, de legalább a törzsszövegben érdemes lett volna feltüntetni, hogy az eredmények alapjait a logisztikus regresszió jelentette.

A többváltozós analízisben az 5. táblázatban feltüntetett paramétereket vizsgáltuk, egyváltozós analízisben nem hasonlítottuk össze a sentinel nyirokcsomó pozitív és negatív betegek egyes prognosztikus paramétereit, csak a %-os különbséget neveztük meg, ami hiányossága az elemzésnek, köszönöm az észrevételt, valamint a kiegészítést, hogy a 7. táblázatnál érdemes lett volna feltüntetni a logisztikus regresszió statisztikai módszert, ez a metodikai részben került csak közlésre.

5. táblázat: A sentinel nyirokcsomó műtött betegek paramétereit [25]

Paraméterek	N	%
Összes	850	100
Nem		
Nő	453	53
Férfi	397	47
Életkor átlag (min.-max.)	54,6 (14-83)	
Szövettan		
SSM	453	53,29
NM	225	26,47
ALM	28	3,29
LMM	8	0,95
Egyéb	136	16
Breslow tumorvastagság		
<2 mm	545	66,06
2-4 mm	249	30,18
>4 mm	37	3,76
Clark		
I	13	1,53
II	50	5,88
III	324	38,12
IV	432	50,82
V	19	2,24
Nem meghatározható	12	1,41
Exulceráció		
Igen	173	20,4
Nem	674	79,6
Regresszió		
Igen	166	19,5
Nem	684	80,5
Lokalizáció		
Felső végtag	172	20,24
Alsó végtag	256	30,12
Törzs	422	49,64
SLNB		
Negatív	741	87,49
Pozitív	106	12,51

A 62. oldalon egyváltozós és többváltozós elemzések eredményei láthatóak, a többváltozós esetén érdemes lett volna jobban szelektálni a vizsgálatba bevont változók között.

A vizsgálatban az volt a törekvésem, hogy minden prognosztikus és prediktív faktor, ami a sentinel nyirokcsomó státusszal és a kórlefolyással összefügg, elemzésre kerüljön, hogy a BRAF és NRAS mutáció prediktív és prognosztikai értéke kellőképpen bizonyított legyen.

Az Irodalomlista 27. hivatkozása egy PhD-dolgozat, ehelyett jobb lett volna inkább a 24. közleményt szerepeltetni, mely az előző alapjául szolgáló, lektorált folyóiratban megjelent munka.

A Ph.D. dolgozatot azért tüntettük fel a hivatkozások között, mert az magyar nyelvű volt, ezért az ábrákat erre hivatkozva közölhettük.

A 64-67. oldalon medián túlélések olvashatóak, hónapban megadva, azonban nem világos, hogy hogyan jöttek ki pl. az 5,29 hónap, vagy 11,46 hónap értékek – ha nem alkalmazták a kerekítés szabályait, akkor talán hétben, vagy napban kellett volna megadni a túlélési időket, ha viszont igen, akkor a medián tizedesértéke csak 0, vagy 5 lehet.

Köszönöm az észrevételt, figyelmetlenség volt két tizedes jegyig feltüntetni a hónapokban kifejezett túlélést, kerekítve lett volna informatívabb.

A 17. táblázatban az átlagéletkor és a Breslow-érték mellett a minimum és maximum értékek láthatóak. Mivel az életkor (és valószínűleg Breslow is) nem normális eloszlást követ, jobb lett volna a mediánt mutatni. Átlag mellett általában a szórás szerepel (már, ha a kérdéses változó normális eloszlást követ).

Valóban szerencsésebb lett volna az életkornál és a Breslow-értéknél a medián paramétereket közölni, de a fenti két faktort a statisztikai analízisben folyamatos változóként értékeltük, tehát a lényegi elemzést ez nem befolyásolta véleményem szerint.

Érdemes lett volna kielemezni, hogy a bemutatott két kar (vemurafenib+cobimetinib, illetve a dabrafenib+trametinib) klinikopatológiai paramétereik között volt-e statisztikailag szignifikáns különbség.

Tekintettel arra, hogy nagyrészt finanszírozási okokból, másrészt azért, mert a dabrafenib+trametinib kombináció később került törzskönyvezésre, valamint a vemurafenib+cobimetinib terápiát csak fele annyi beteg kapta, ezért eltekintettünk a két kar prediktív paramétereinek összehasonlításától.

A szerző nem definiálta, hogy az LDH-nál milyen küszöbértéktől kezdve számított emelkedettnek a mért szint.

Az Intézetünkben validált LDH normál érték 10-247 U/L, a felső érték fölötti laktát-dehidrogenáz szintet tekintettük emelkedettnek.

A 26-30. ábra aláírásában a két kar nincs egyértelműen jelölve, a V+C, illetve a D+T összetételek nem teljesítik maradéktalanul azt a feltételt, hogy az ábráknak és aláírásuknak önmagukban, a törzsszöveg nélkül is értelmezhetőnek kell lennie.

Valóban a 26-30. ábráknál a két különböző kar jelölése nem az ábrafeliratnál, hanem magán az ábrán szerepel.

A szerző súlyosságuk szerint osztályozta a kezelések okozta mellékhatásokat, viszont nem határozta meg, hogy ez pontosan mi alapján történt

Nem az „Eredményekben”, hanem a „Módszerben” tüntettük fel (29. oldal), hogy a mellékhatásokat a CTCAE 4.03 verziója alapján értékeltük.

A magas és alacsony dózisu ipilimumabbal kezelt csoportok betegkarakterisztikájának és mellékhatásának összehasonlításánál hiányzik a statisztikai kiértékelés. A betegek életminőséget felmérő kérdőív először az *Eredmények* fejezetben kerül elő, vagyis teljes mértékben elmaradt az alkalmazott módszertan leírása.

Az alacsony és magas dózisu ipilimumabbal kezelt betegek jellemzőit az alábbi táblázat mutatja (22. táblázat). A betegek permutált block módszerrel kerültek randomizálásra, ahol négyes blockméretet alkalmaztak, M-stádium (M0/M1a/M1b vs. M1c agyi áttét nélkül vs. M1c agyi áttéttel), előzetes terápia (igen vagy nem) és ECOG-státusz (0 vs. 1) szerint történt a stratifikáció. A két csoport paramétereit statisztikailag nem különböztek.

A tanulmányban, ami a disszertáció alapját képezte, a mellékhatások statisztikailag nem kerültek összehasonlításra, azonban utólag elvégeztük a rendelkezésre álló adatok alapján az összehasonlítást, ami magasan szignifikáns ($p < 0,00001$) eredményt adott, azonban az összehasonlítás csak a grading alapján volt lehetséges. A disszertáció alapját képező tanulmányban feltehetően azért nem végeztek összehasonlítást, mert a mellékhatások spektruma különbözött.

Az életminőséget felmérő kérdőív vonatkozásában a 31. oldalon valóban csak megjegyzés szintjén szerepelt, hogy életminőségi kérdőívek is kitöltésre kerültek. Az életminőség meghatározása azonban csak másodlagos végpont volt a vizsgálatban, valamint hosszútávú életminőségi felmérést nem is végeztek, tekintettel arra, hogy a betegbeválasztásban kritérium volt, hogy előzetesen nem kezelt betegek kerüljenek vizsgálatra, ezért progresszió esetén további terápiákat kaphattak, ami nem tette lehetővé, hogy az első vonalban alkalmazott

kezelés életminőségre gyakorolt hatása megfelelően értékelhető legyen. Mindezek indokolhatják, hogy a disszertációban az életminőség vizsgálata nem kapott nagyobb hangsúlyt.

A vizsgálatban kétféle kérdőívet alkalmaztak, az 1, a 4, a 7, a 10, a 12 héten, valamint a terápia befejeztekor. Az EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) QLQ-C30 kérdőív 3. verziója és az European Quality of Life 5 dimenziós (EQ-5D) összesített mutató és vizuális analóg skálája (VAS) került alkalmazásra.

22. táblázat: A betegek jellemzői [5]

	Ipilimumab 10mg/tskg (n=365)	Ipilimumab 3 mg/tskg (n=362)
Kor (év)	62 (49-70)	62 (51-71)
<65, n (%)	224 (61%)	208 (57%)
≥ 65 n (%)	141 (39%)	154 (43%)
Nem		
Férfi, n (%)	219 (60%)	231 (64%)
Nő, n (%)	146 (40%)	131 (36%)
Rassz		
Kaukázusi, n (%)	361 (99%)	359 (99%)
Fekete vagy afroamerikai, n (%)	1 (<1%)	1 (<1%)
Ázsiai, n (%)	2 (1%)	1 (<1%)
Egyéb, n (%)	1 (<1%)	1 (<1%)
ECOG performance státusz		
0, n (%)	262 (72%)	253 (70%)
1, n (%)	103 (28%)	109 (30%)
M stádium		
M0, M1a vagy M1b, n (%)	136 (37%)	142 (39%)
M1c agyi metasztázis nélkül, n (%)	164 (45%)	158 (44%)
M1c agyi metasztázissal, n (%)	65 (18%)	62 (17%)
Melanoma korábbi kezelése		
Igen, n (%)	205 (56%)	205 (57%)
Nem, n (%)	160 (44%)	157 (43%)
Korábbi terápia		
Szisztémás kezelés, n (%)	206 (56%)	205 (57%)
Radioterápia, n (%)	107 (29%)	96 (27%)
Sebészi kezelés, n (%)	359 (98%)	346 (96%)
LDH szint		
normál tartomány alatt, n (%)	222 (61%)	219 (60%)
normál tartomány felett, n (%)	133 (36%)	136 (38%)
normál tartomány kétszerese alatt, n (%)	321 (88%)	306 (85%)
normál tartomány kétszerese fölött, n (%)	34 (9%)	49 (14%)
nincs adat, n (%)	10 (3%)	7 (2%)
AJCC stádium		
III, n (%)	35 (10%)	35 (10%)
IV, n (%)	330 (90%)	327 (90%)
BRAF státusz		
V600 mutáció, n (%)	75 (21%)	75 (21%)
Egyéb mutáció, n (%)	5 (1%)	4 (1%)
Mutáció nélkül, n (%)	225 (62%)	237 (65%)
Ismeretlen, n (%)	60 (16%)	46 (13%)

Ascierto PA et al.: Lancet Oncol. 2017 May;18(5):611-622. alapján [5]

A 85. oldalon olvasható többváltozós elemzésről ugyan értekeznek a szerzők, az eredményeket bemutató táblázat viszont hiányzik – holott az egyváltozós vizsgálatnál sikeresen abszolválta a feladatot. Az ipilimumabbal végzett vizsgálat alapján a magas LDH a teljes túlélés negatív prediktorának bizonyult. Megjegyzendő, hogy a magas LDH-szint a korábban bemutatott BRAF+MEK gátló, illetve a következő alfejezetben leírt anti-PD1 kezelésnél is negatívan

befolyásolta a teljes és a progressziómentes túlélést, emiatt elképzelhető, hogy az LDH nem a kezelés negatív prediktora, hanem független prognosztikai paraméter.

A táblázatot a témakör alapjául szolgáló közleményből idézem.

Klinikai paraméterek	Hazard ratio	95% CI	p-érték
ECOG-státusz	1,653	0,644–4,240	0,2954
LDH	3,554	1,225–10,306	0,0190
AEC	1,507	0,578–3,924	0,4000
ESR	1,544	0,609–3,912	0,3590

A klinikai paraméterek kiindulási értékeinek összefüggése a túléléssel, többváltozós analízis (Cox-regesszió)

Köszönöm meglátását az LDH érték prediktív, illetve prognosztikus értékét illetően. Az LDH érték fontos paramétere a melanoma stádiumbeosztásának, ennek megfelelően független prognosztikus paraméternek tartjuk. Klinikai vizsgálatokban azonban ennek prediktív értéke is bebizonyosodott, különösen jól demonstrálja ezt az ipilimumab terápia hatékonyságának vizsgálata az Onkológiai Intézetben, sokatmondó adat, hogy a normál tartomány másfélszeresét meghaladó LDH-érték esetén az egy és két éves túlélés 0% volt, az ennél alacsonyabb LDH értéknél pedig 54 és 42%.

A daganatos mikrokörnyezet elemzése immunhisztokémia vizsgálatokkal történt. Érdemes lett volna egy táblázatban összefoglalni az egyes antitestek klónjait, fajtáját, és az alkalmazott koncentrációkat. Nem világos, hogy az egyes markerek denzitása miként volt kiértékelve, mekkora nagyításon, hány látótérben, hány vizsgáló végezte el a munkát. A statisztikai értékelés is részletszegény, táblázatok és grafikonok nagymértékben javíthatnak volna a prezentáció minőségén. Ugyanígy, a túlélési eredmények bemutatása is igen szegényes, hiányoznak a grafikonok, illetve a kockázatelemzési táblázat, holott ezekre a részletekre a szerző a dolgozat többi részében kiemelt szerepet fordított.

A dolgozatban elsősorban a melanoma ellátásának klinikai eredményeire kívántam fókuszálni. A fentebb megjelölt témakör igen fontos eredményeket tartalmaz, azonban kiemeltem a gyakorlati vonatkozásokat, többek között lényegesnek tartottam a vizsgálati anyagok definiálását, illetve a nyirokcsomók és a kután/szubkután metasztázisok különböző denzitás során tapasztalt eltéréseinek jelentőségét. Az alábbiakban idézem (a megjelölt közlemény alapján) a hiányzó részleteket:

A vizsgálatok kivitelezése és értékelése

Az immunhisztokémiai vizsgálatokhoz formalinban fixált, paraffinba ágyazott, 3 mikrométer vastag metszeteket használtunk. A deparaffinált metszeteken mikrohullámos antigénfeltárást követően az endogén peroxidáz-aktivitást metanolban hígított 3%-os hidrogén-peroxiddal blokkoltuk. A nem specifikus kötőhelyek gátlását 3%-os borjúsérummal végeztük.

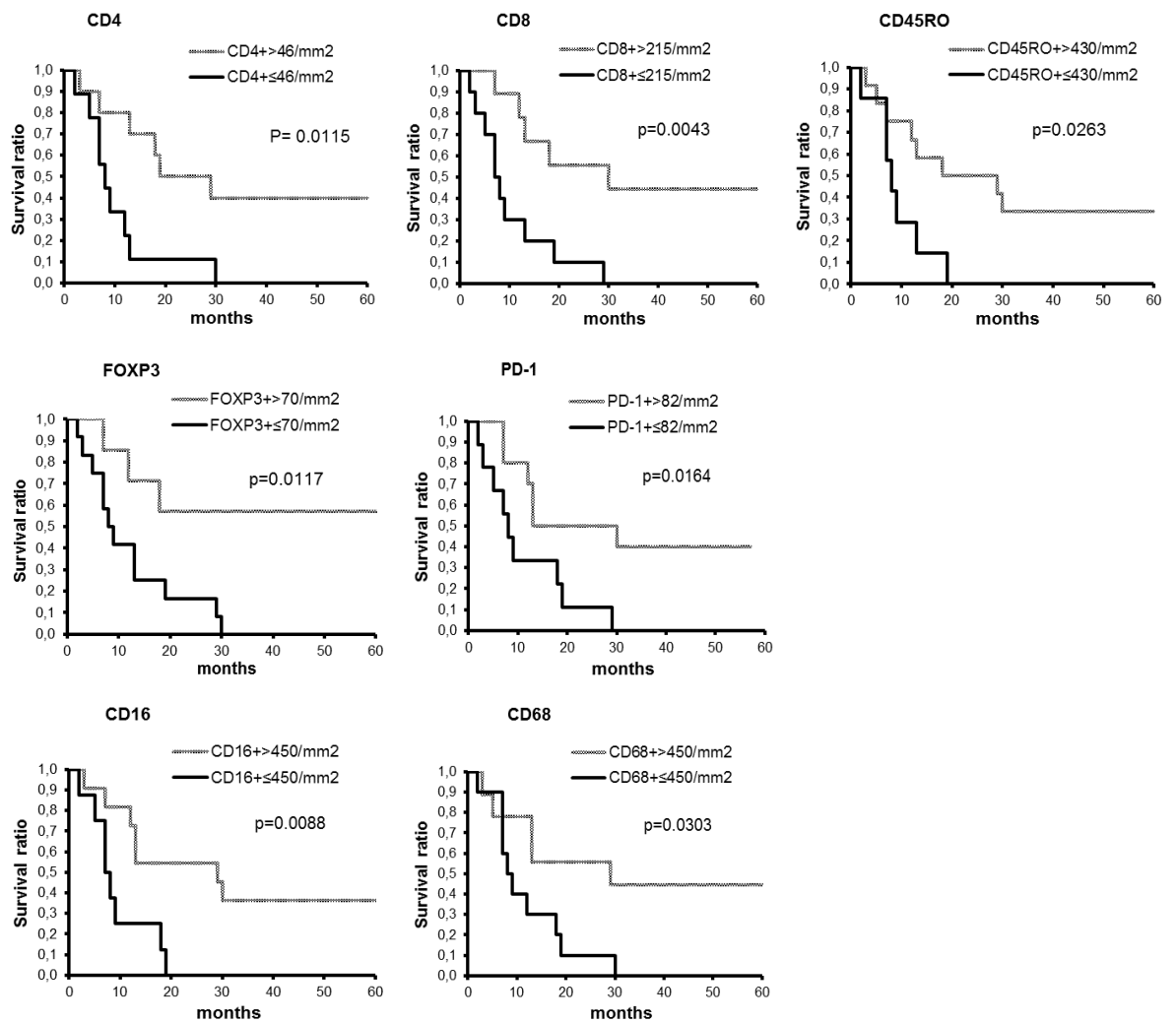
A vizsgálatoknál a következő monoklonális antitesteket használtuk: CD8, CD20cy, CD45RO, CD68 (Dako, Glostrup, Dánia), CD16, CD137 (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX), CD134 (BD Biosciences Eastern Europe, Heidelberg, Németország), FOXP3 (236A/E7; eBioscience, San Diego, CA), NKp46 (R&D Systems, Abingdon, Egyesült Királyság), CD4 és PD-1 (Cell Marque, Rocklin, CA).

Az antitestek kötődését SSTM One-Step Polymer-HRP IHC Detection System (BioGenex, Fremont, CA) alkalmazását követően 3-amino-9-etilkarbazollal (AEC; Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA) tettük láthatóvá, majd hematoxilinnel háttérfestést végeztünk.

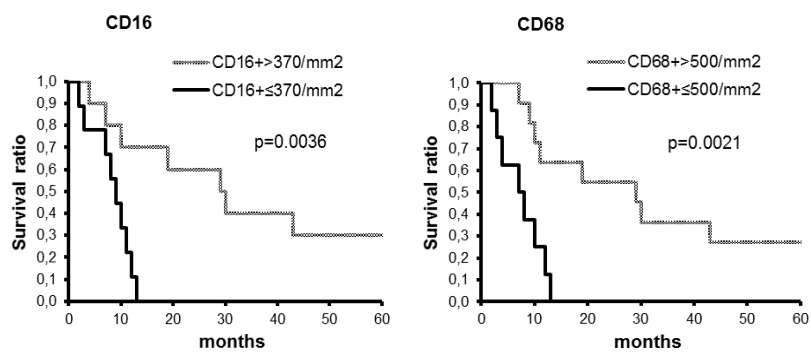
A melanoma áttétek metszeteinek vizsgálatát 10×10-es négyzetháló segítségével végeztük, 400×-os nagyítás mellett, ahol a négyzetháló területe 0,0625 mm² volt. A számolást 2 kutató egymástól függetlenül végezte, a klinikai adatok ismerete nélkül. A két kutató által mért értékek között nem volt szignifikáns különbség, a korrelációs koefficiens az egyes immunsejttípusokra vonatkoztatva 0,6814 és 0,9156 között volt. Az analízishez a mért adatok középértékét használtuk fel. A festődő sejteket minden metszet esetében legalább 10, véletlenszerűen kiválasztott látómezőben számoltuk, a nekrotikus területek kihagyásával. Kisebb metasztázisok esetén a tumor egész területét megvizsgáltuk. Azoknál a pácienseknél, akiknek több szövettani mintája is rendelkezésre állt, a festődő sejtek átlagos sűrűségét is meghatároztuk az egyes immunsejttípusokra vonatkoztatva.

Minden markerre meghatároztunk küszöbértéket a teljes minta vizsgálata alapján kalkulált mediánértékek alapján (néhány esetben kisebb kiigazítást alkalmazva a diszkriminációs erő fokozása céljából) és kiszámítottuk azoknak a betegeknek az arányát, akiknél a küszöbérték feletti átlagos immunsejtsűrűséget mértünk. A nyirokcsomó-metasztázisok esetén a következő küszöbértékeket alkalmaztuk, sejt/mm²-ben megadva: 46 (CD4), 215 (CD8), 430 (CD45RO), 8 (CD134), 10 (CD137), 70 (FOXP3), 83 (PD-1), 53 (CD20), 5 (NKp46), 450 (CD16), 450 (CD68). A kután/szubkután metasztázisoknál használt küszöbértékek a következők voltak: 18 (CD4), 21 (CD8), 220 (CD45RO), 4 (CD134), 3 (CD137), 20 (FOXP3), 5 (PD-1), 4 (CD20), 4 (NKp46), 370 (CD16), 500 (CD68). A nyirokcsomó- és a kután/szubkután metasztázisokat együtt vizsgálva a következő küszöbértékekkel számoltunk: 24 (CD4), 155 (CD8), 440 (CD45RO), 8 (CD134), 7 (CD137), 60 (FOXP3), 28 (PD-1), 34 (CD20), 4 (NKp46), 440 (CD16), 440 (CD68).

a



b

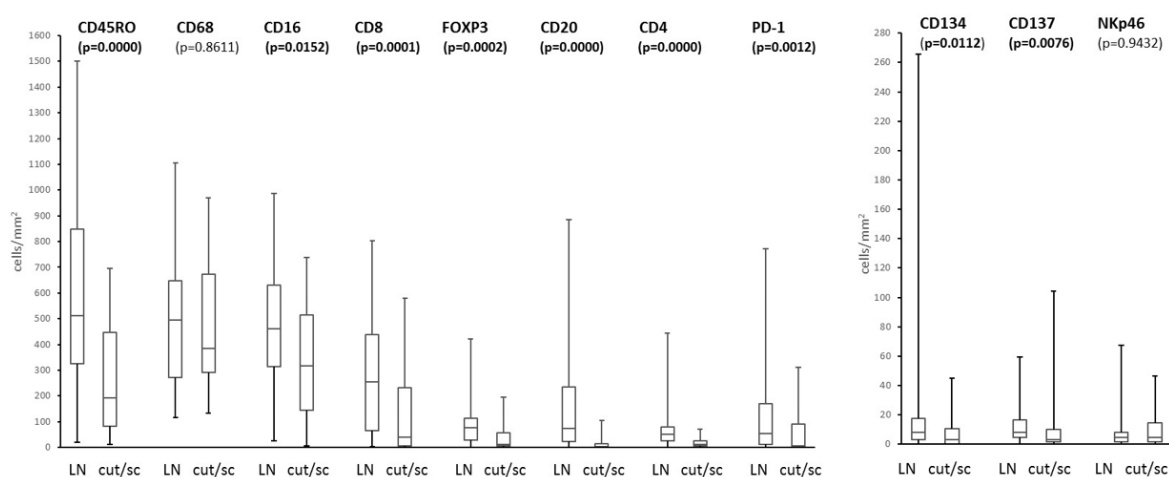


Az ipilimumabterápiában részesülő betegek Kaplan–Meier-görbéi az immunsejtek átlagos sűrűségének vonatkozásában nyirokcsomóáttétek (a) és kután/szubkután áttétek esetén (b)

Immensejtmarker	Nyirokcsomó-metasztázis (betegszám: 19)			Kután/sc. metasztázis (betegszám: 19)			Összes metasztázis (betegszám: 30)		
	Resp. n=7	Non-resp. n=12	p-érték	Resp. n=9	Non-resp. n=10	p-érték	Resp. n=13	Non-resp. n=17	p-érték
CD4	6 (86)	4 (33)	0,0274	5 (56)	5 (50)	0,8087	8 (62)	9 (53)	0,6377
CD8	6 (86)	3 (25)	0,0106	4 (44)	5 (50)	0,8087	8 (62)	5 (29)	0,0785
CD45RO	6 (86)	6 (50)	0,1195	6 (67)	4 (40)	0,2451	7 (54)	5 (29)	0,1758
CD20	6 (86)	4 (33)	0,0274	3 (33)	5 (50)	0,4625	6 (46)	4 (24)	0,1927
CD134	5 (71)	3 (25)	0,0480	5 (56)	4 (40)	0,4977	8 (62)	5 (29)	0,0785
CD137	5 (71)	2 (17)	0,0170	4 (44)	5 (50)	0,8087	7 (54)	7 (41)	0,4906
FOXP3	6 (86)	1 (8)	0,0009	5 (56)	5 (50)	0,8087	7 (54)	3 (18)	0,0371
PD-1	5 (71)	5 (42)	0,2101	3 (33)	6 (60)	0,1775	6 (46)	8 (47)	0,9607
CD16	5 (71)	6 (50)	0,3615	7 (78)	3 (30)	0,0373	8 (62)	6 (35)	0,1533
CD68	4 (57)	5 (42)	0,5146	8 (89)	3 (30)	0,0094	11 (85)	8 (47)	0,0344
NKp46 ^b	6 (86)	4 (33)	0,0274	4 (50)	3 (30)	0,1353	10 (83)	7 (41)	0,0232

A terápiás válasz és a metasztázisokat infiltráló immensejtek sűrűségének kapcsolata^a

^aA szignifikánsan magas immensejtsűrűséget mutató metasztázissal bíró betegek számát adtuk meg (%). ^bEgy nyirokcsomó-metasztázis nem volt vizsgálható. Resp.: responder, Non-resp.: non-responder



Az immensejtek sűrűsége az ipilimumabterápiában részesült betegek kezelés előtti nyirokcsomó- és kután/szubkután metasztázisban (boxplot diagramm). A dobozok alsó és felső élei a 25-ös és 75-ös percentiliseket, a horizontális vonalak a mediánértéket, a pálcikák alsó és felső pontjai a maximum- és a minimumértékeket mutatják

A *Megbeszélés* 16 oldal, a szerző próbálta értékelni saját tudományos munkásságának jelentőségét a rendelkezésre álló szakirodalom tükrében, azonban egyes bekezdéseknél sajnálatosan csak az eredmények ismétléséig jutott el. Az itt közölt 39. ábra a 12. ábra ismétlése, a redundancia felesleges. Hasonló a helyzet a 40. és a 17. ábra esetén. A saját epidemiológiai eredmények és a nemzetközi tanulmányokban feltüntetett esetszámok összehasonlítása során a jelölt forrásként nem hivatkozik Ferlay közleményeire, csupán szövegesen említi meg azt. A 106. oldalon olvasható kijelentés szerint az ipilimumab-kezelés esetén „saját tanulmányainkban az autoimmun mellékhatások és a klinikai hatékonyság között nem találtunk összefüggést”, mindazonáltal, a szerző ilyen jellegű eredményeket egyáltalán nem oszt meg az olvasóval.

Összefoglaló tanulmányomban az elmúlt időszak epidemiológiai, diagnosztikai és terápiás eredményeit kívántam összefoglalni kisebb részben országos adatok alapján, nagyobb részben saját, országos onkológiai intézeti betegeinknél.

A „Megbeszélésben” jelezett redundancia részben annak következtében áll fenn, hogy az eredményeket, epidemiológiai és terápiás eredményeket is egymás kontextusában, részben a terápia időbeli fejlődésének tükrében hasonlítottam össze. A megbeszélésben azért emeltem ki az eredményekben már szereplő két ábrát, mert a gyakorlat szempontjából a két ábra kiemelten demonstrálja a prevenció és az innovatív terápiák eredményességét.

A 79. oldalon került közlésre, hogy: „A toxicitás és a terápia hatékonysága között nem találtunk összefüggést.” A megállapítás az autoimmun mellékhatásokra vonatkozik.

Kérdéseim:

1. A NEAK adatbázis alapján leszűrt, melanómára vonatkozó incidenciaadatok némiképp ellentmondanak a Nemzeti Rákregiszter méréseinek, ugyanis ez utóbbi az új betegszám konstans növekedését mutatja, az előbbi viszont 2015-re egyfajta platót mutat, utána csökkenésről számol be. Mi az eltérés oka, melyik megbízhatóbb. Mik lehetnek az eltérő módszerek korlátai?

A NEAK adatbázis közel 100%-ban lefedi a C43 BNO kóddal kezelésbe vett betegeket. Vizsgálatunkban 2009. január és 2019. december között 20 éves vagy annál idősebb betegek kerültek elemzésre, akiknél minimálisan kétszer fordult elő a C43 melanoma kód, akiknél csak egyszer fordult elő, azok a betegek úgy kerültek be az elemzésbe, ha 60 napon belül meghaltak az első C43 kódot követően. A Nemzeti Rákregiszter jelentés alapú regiszter, az adatok különbsége a két módszer alapján 5% alatt volt. A valós jelentett adatokra épülő adatbázis folyamatos tisztítást igényel, emiatt a betegség regiszterekre vonatkozó nemzetközi ajánlásoknak megfelelően a közzététellel legalább két évet várni kell. Ezzel szemben a lejelentett esetek alapján végzett összesítés megbízhatóbb mérőszámokat eredményezhet, viszont egyrészt jóval munkaigényesebb, másrészt pontosságát nagymértékben meghatározza a bemenő adatok minősége és megbízhatósága. Ez utóbbi tény felveti az adatrögzítést végző orvosok és az adminisztratív személyzet felelősségét.

Ami az incidencia csökkenést jelenti 2011-2015 és 2015-2019 között, az nem mond ellent a Rákregiszterben 2001-2019 között észlelt incidencia emelkedésnek, hiszen hosszabb periódusban ez a "finom" különbség statisztikailag nem volt igazolható.

2. A BRAF+MEK gátló terápiát alkalmazó vizsgálatban mitől függött, hogy melyik beteg került a vemurafenib+cobimetinib, illetve a dabrafenib+trametinib karra? Volt-e túlélésbeli különbség a két kar között?

Az alkalmazott terápia egyrészt attól függött, hogy melyik gyógyszer volt éppen finanszírozott és elérhető. A befogadást követően hosszú ideig első vonalban a vemurafenib+cobimetinib kombinációt kellett válasszuk, dabrafenib+trametinibet csak szakmai indokok alapján alkalmazhattunk, azonban klinikai adatok szólnak amellett, hogy agyi metasztázisban a dabrafenib tartalmú terápia mellett több az evidencia, ezért agyi metasztázisban ezt a kombinációt alkalmaztuk. Figyelembe vettük a terápia megválasztásánál a mellékhatások különböző spektrumát, lázas betegnél kerültük a dabrafenib+trametinib kezelést, világos bőrű, fényérzékeny betegeknél pedig a vemurafenib+cobimetinib terápiát.

Objektív terápiás válasz dabrafenib+trametinib terápia esetén a betegek 82%-ában (7% CR, 75% PR), értünk el. 8%-ban stabil betegséget, 10%-ban progresszív betegséget észleltünk. A medián PFS 8,5 hónap, a medián OS 12 hónap volt.

A dabrafenib+trametinib terápiában részesülő betegeket két csoportra osztottuk túlélési mutatóik elemzése céljából, a cerebrális metasztázisú és az agyi áttétől mentes csoportra. Mind a medián PFS, mind az OS vonatkozásában szignifikáns különbséget észleltünk a két alcsoport között ($p \leq 0,0002$; $p \leq 0,0001$). A cerebrális metasztázisú csoportban 7 hónapos (1-26) medián PFS-t, 11 hónapos (3-26) medián OS-t értünk el. Cerebrális metasztázis nélkül a medián PFS 14 hónap (3-43), a medián OS 18,5 hónap (5-43) volt.

Vemurafenib+cobimetinib terápiánál a betegek 76%-ában találtunk tumorválaszt (15% CR, 61 PR). A betegek 14%-ánál volt stabil betegség, 10%-ban progresszió. A medián PFS 8 hónapnak, a medián OS 18 hónapnak bizonyult.

Direkt összehasonlítást nem végeztünk.

3. Volt-e különbség az ipilimumabbal kezelt betegeknél a gyógyszerre adott válaszban a különböző molekuláris alcsoportok esetén? A *Megbeszélés* szerint nem, de ilyen eredmények a dolgozatban nem kerültek bemutatásra.

Az értekezés 83. oldalán jelzem (Az ipilimumab terápia klinikai biomarkereinek elemzése), hogy nem találtunk összefüggést a primer tumor NRAS és BRAF mutációja és a terápiás válasz között.

A tumort infiltráló limfocitákkal kapcsolatos tanulmányunkban szintén nem találtunk statisztikai összefüggést a responderek és non-responderek között BRAF mutáció vonatkozásában.

	Responderek (n=13) ^a	Non-responderek (n=17) ^a	p-érték
Életkor – év, medián (tartomány)	67 (51–78)	53 (30–66)	0,0000 ^b
Nem – n (%)			
nő	5 (38)	8 (47)	NS ^c
férfi	8 (62)	9 (63)	
Betegségstádium – n (%)			NS ^c
III N3	1 (8)	0 (0)	
IV M1a	4 (31)	2 (12)	
IV M1b	3 (23)	5 (29)	
IV M1c	5 (38)	10 (59)	
Metasztatikusszervek száma			NS ^c
1-2	8 (62)	14 (82)	
>2	5 (38)	3 (18)	
ECOG-státusz			NS ^c
0	10 (77)	10 (59)	
1	3 (23)	5 (29)	
2	0 (0)	2 (12)	
LDH			NS ^c
Normál	10 (77)	8 (47)	
>Normál felső határa	3 (23)	9 (53)	
BRAF V600 mutáció			NS ^c
Jelen van	5 (38)	3 (18)	
Hiányzik	4 (31)	6 (35)	
Ismeretlen	4 (31)	8 (47)	
Progressziómenets túlélés – hónap, medián (tartomány)	9 (6–57)	2 (1–5)	0,0000 ^b
Teljes túlélés – hónap, medián (tartomány)	30 (10–61)	7 (2–30)	0,0000 ^b
Összes vizsgált minta	34	52	NS ^c
nyirokcsomó-metasztázis	20	32	
kután/sc. metasztázis	14	20	

^aRespondernek értékeltük azokat a betegeket, akiknél a legjobb terápiás válasz komplett vagy parciális remisszió vagy legalább 6 hónapig tartó stabil betegség volt. ^bMann–Whitney-teszt, ^c χ^2 -teszt

4. Miért tér el a valós beteganyagon alkalmazott gyógyszerhatékonyság a klinikai vizsgálatban mért értékektől?

A klinikai vizsgálatok szigorú beválasztási és kizárási kritériumok alapján kerülnek kivitelezésre, a legtöbb vizsgálatban agyi metasztázisú beteg csak különböző kritériumok alapján meghatározottan stabil státuszban kerülhet beválasztásra, nyálkahártyai melanoma is kizárási kritériumot képezhet, valamint az uveális melanoma is. Általában 0 és 1 ECOG státuszú betegek kerülhetnek beválasztásra.

Klinikai vizsgálatnál bizonyos komorbiditások is kizárási kritériumba tartozhatnak.

Ezzel szemben a valós klinikumban azokat a betegeket is kezelni kell, akiknél a prognózis kedvezőtlenebb és a fenti kizárási kritériumok betegeinek csoportjába tartoznak.

5. Saját kutatási anyaga, klinikai tapasztalata és a rendelkezésre álló ajánlások alapján a jelölt milyen séma szerint kezelné előrehaladott melanómás betegeket?

A melanómás betegek kezelését, a terápia sorrendjét, illetve a választandó terápiát jelentősen befolyásolja a pénzügyi háttér. Bár Magyarországon a fontosabb terápiák finanszírozottak, BRAF mutáció esetében amennyiben kontraindikáció nem áll fenn, elsőként target terápiát kell választani, holott a célzott terápiával elérhető medián OS alig haladja meg a két évet, viszont immunterápiás kombinációval 72 hónapos medián túlélés érhető el a CheckMate-067 vizsgálat alapján. A BRAF pozitív betegeknél sok esetben hatékonyabban lehetne alkalmazni az immunterápiás kombinációt, mint a target terápiát. A PD-1 gátló monoterápia és az immunkombináció BRAF negatív betegeknél az egyedül alkalmazható kezelési módzat, el kell döntenem azonban, életkor, komorbiditások és ligand pozitivitás alapján, hogy melyik terápiát válasszuk. PD-L1 ligand pozitív betegeknél egyformán hatásos az immunkombináció és a PD1 gátló terápia. Ligand negatív betegeknél az immunterápia kevésbé eredményes, azonban itt különbség van a monoterápia és a kombinációs terápia hatékonysága között.

Az ipilimumab immunterápia a jelenlegi ajánlások szerint másodvonalban javasolt.

6. Magyarországon jelenleg milyen primer prevenció programok léteznek melanóma esetén?

A melanómában kimutatható hatékony prevenció nagymértékben függ az Euro-melanoma edukációs és prevenció kampánytól is, ami 20 éve aktív Európában. Magyarország ehhez a kampányhoz már 2007-ben csatlakozott. Az első magyar kampány 2009-ben kivitelezésre került az MDT Dermatoonkológiai Szekciójának szervezésében.

Ennek az európai szűrőprogramnak köszönhető, hogy ezt követően önkéntes, anyagi ellenszolgáltatás nélkül kivitelezett szűrővizsgálatok sokasága jelent meg, illetve pl. sikerrel szerepelt a MOT Onkodermatológiai Szekciója is a Lions Klub, illetve a Rákliga rendezvényein is. Számos cégek vagy szervezetek által szponzorált (L'Oreal, MSD, egyéb), vagy ingyenes alkalmoszerű szűrés is megrendezésre kerül Magyarországon. Az Onkológiai Intézet házi orvosok számára, az EMMI pedig iskolai tanulók számára szervezett prevenció programot, amelyben magam is részt vettem.

7. Irodalmi adatok szerint A BRAF mutáció esetén alkalmazott vemurafenib és a MEK inhibitor kettős hatása lényegesen hosszabb progresszió mentes és teljes túlélést biztosított, az Ipilimumab hatásánál. Ezzel szemben az értekezés vizsgálata az utóbbi szer hatását találta kedvezőbbnek a BRAf inhibitor monoterápiával szemben. A kettős target magyarázza a jobb eredményt? Az értekezés vizsgáltai 2019-ben lezárultak, változott ez az eredmény az utóbbi 3-4 évben? Milyen javulást jelentett az immun checkpoint inhibitorok bevezetése mono vagy kombinált terápiában? A szerző tapasztalatai alapján melyik terápiás modalitás a leghatékonyabb napjainkban, és függ-e ez a betegség aktuális státusától?

A BRAF+MEK inhibitor kettős hatása lényegesen hosszabb progressziómentes és teljes túlélést biztosít, mint a monoterápia, illetve hatékonyabb az ipilimumabnál is.

Retrospektív saját tanulmányunkban ipilimumab terápiánál 2,7 hónap medián progressziómentes és 9,8 hónap teljes túlélést találtunk.

Vemurafenib monoterápia esetén a medián PFS 6,5 hónap, a medián OS pedig 11,5 hónap volt. Ezzel szemben BRAF+MEK inhibitor terápiánál a medián PFS dabrafenib+trametinib esetében 8,0 hónap, a medián OS 12 hónap volt tanulmányunkban.

Ugyancsak hosszabb volt a vemurafenib+cobimetinib terápiánál a medián PFS, 8 hónap, a medián OS pedig 18 hónap volt. Mindez a BRAF+MEK inhibitor kombinációs target terápia hatékonyságával magyarázható, a mitogén aktivált protein kináz jelátviteli út reaktivációjának késleltetése útján.

A target terápiákkal elérhető eredmény nem változott az utóbbi években, bár számos klinikai kutatás irányul a rezisztencia faktorok vizsgálatára, ilyen kutatás Intézetünkben is sikerrel folyik és nemsokára közlésre kerül.

A jelenlegi eredmények alapján az anti CTLA-4 + anti-PD1 terápia a leghatékonyabb, a 2021-es ASCO-n közölt eredmények alapján. Legújabb törzskönyvezett immunterápiás kombináció az Opdualag, ami anti-PD1 és LAG3 inhibíció által fejt ki hatékonyságát, erre a terápiára azonban hosszú követéses rátekintés még nincs. Az azonban ismert, hogy a mellékhatások gyakorisága kisebb, mint az előzőekben ismertetett immunkombinációé.

8. A Coronavírus pandémia rendkívüli megterhelést jelentett az egészségügyre. Milyen szinten okozott ez zavart a daganatos betegek- beleértve az új melanomás betegek-ellátásában?

Saját elemzésünkben (Balatoni T, Kispál M, Madurka I, Liskay G. COVID-19 and melanoma: a single center retrospective cohort study from Hungary. *Magy Onkol* 66:141-145, 2022) a karanténidőszak első 3 hónapjában (2020. március–május) új melanómával ambulanciánkon jelentkező betegek számát hasonlítottuk össze az előző év azonos 3 hónapjában diagnosztizált

új daganatok számával, és vizsgáltuk ugyanezen időszakokban az osztályunkon gyógyszeres kezelésben részesített, előrehaladott melanómában szenvedő betegek számának változását is.

Elemztük a vilá járvány első 14 hónapjában (2020. március–2021. április) intézetünkben előrehaladott melanóma miatt gyógyszeres kezelést igénylő betegek kórlefol yását intézeti adatbázisunk alapján. Rögzítettük a Covid-19-fertő zés tényét, illetve a vakcináció adatait.

A 2020. március 1. és május 31. közötti időszakban 82 új melanómás beteget vettünk gondozásba ambulanciánkon, amely 34%-os csökkenés az előző év azonos időszakához képest.

A melanómára gyanús léziók eltávolítását az érvényes intézeti protokolloknak megfelelően 2 héten belül, a reexcíziókat 4 hetes időintervallumban kértük.

Ugyanezen időszak alatt az osztályunkon gyógyszeres terápiában 142 beteget részesítettünk, amely 3,6%-os növekedés az előző évhez képest, miközben a betegvizitek száma 10%-kal, 913-ról 821-re csökkent a járvány előtti év azonos periódusához képest.

Az 2020. március 1. és 2021. április 30. közötti időszakban 382 beteg részesült centrumunkban melanóma miatt szisztémás kezelésben. Immunellenőrzőpont-gátló terápiában 181 beteg (47,4%), BRAF-gátló és MEK-inhibitor célzott biológiai terápiában 141 beteg (36,9%), palliatív kemoterápiában (dakarbazin, karboplatin, paklitaxel) 60 beteg (15,4%) részesült. Kezelés alatt álló betegek közül 24-en (6,3%) fertőződtek meg a SARS-CoV-2 vírussal a terápia során.

2020. március és május között („1. hullám”) mindössze egy kezelt betegünket (4%), 2020. október és december között („2. hullám”) 6 betegünket (25%), majd 2021. február és április között („3. hullám”) 17, terápia alatt álló betegünket (71%) érintett a koronavírus-fertő zés. A fertőzöttek medián életkora 60 év volt, közülük 6-an előrehaladott III-as stádiumban (25%), 18-an IV-es stádiumban (75%) részesültek a daganat elleni kezelésben. Immunterápiát 14 beteg (58%), célzott kezelést és kemoterápiát 5 (21%), illetve 4 (17%) beteg kapott, egy esetben pedig nem tudtuk elkezdeni a terápiát a fulmináns lefol yású koronavírus-fertő zés miatt.

Védőoltást egy beteg sem tudott komplettálni a fertő ződés előtt, egyszeri oltást 3 betegünk kapott, az infekció lefol yása mindhárom esetben tünetmentesnek vagy enyhének bizonyult.

A Covid-fertő zésben szenvedő betegek közül 7 esetben (29%) okozta a beteg halálát a vírusinfekció, átlagosan 12 nap alatt, a pozitív koronavírusteresztől számítva. A halálozási ráta a kemoterápiában részesülő fertőzöttek között volt a legmagasabb (75%), ezt követte a célzott terápiában (20%), majd az immunterápiában (14%) részesülő Covid-fertő zött betegek halálozása. Poszt-Covid-szindrómában egy betegünk, perzisztáló PCR-pozitivitásban két betegünk szenvedett.

2020. március és 2021. április között centrumunkban melanóma ellen szisztémás kezelésben részesült, Covid-fertő zött betegek túlélési adatai

Esetszám	24 beteg
Halálozási ráta (összes)	7 beteg (29%)
Medián túlélés (elhalálozottak)*	12 nap
Halálozási ráta (immunterápia)	2 beteg (14%)
Halálozási ráta (célzott terápia)	1 beteg (20%)
Halálozási ráta (kemoterápia)	3 beteg (75%)
Poszt-Covid-szindróma	1 beteg (4%)
Perzisztáló PCR-pozitivitás	2 beteg (8%)

*a pozitív PCR-tesztől számítva

Még egyszer köszönöm, hogy Professzor Asszony véleményezte disszertációm, értékelésével növelte annak hitelességét. Remélem, hogy válaszaimat és magyarázataimat elfogadhatónak tartja.

Köszönöm, hogy a bemutatott disszertáció alapján jelöltként nyilvános vitára alkalmasnak talált, sikeres védelem esetén pedig javasolja az MTA doktori cím odaítélését.

Budapest, 2023. augusztus 10.

Tisztelettel,

Dr. Liskay Gabriella