

**Opponensi vélemény Dr. Liskay Gabriella**  
**“Előrelépések melanómában” című MTA doktori értekezésével kapcsolatban**

Liskay Gabriella 2022-ben az MTA-hoz benyújtott doktori értekezése több évtizedes tudományos kutatási eredményeinek részletes ismertetését tartalmazza. A jelölt vizsgálatainak irodalmi háttérét, saját eredményeit és azok hazai és nemzetközi adatokkal történő összehasonlítását megfelelően illusztrált ábraanyag kíséretében ismerteti.

A tézisekben a szerző 2011 – 2022 között megjelent tudományos eredményeit foglalja össze, melyek a témában végzett folyamatos és magas szintű munkája eredményeképpen született közleményein alapulnak.

A doktori mű témaválasztása rendkívül homogén, a jelölt érdeklődésének és vizsgálatainak középpontjában egyetlen kórkép, a melanoma malignum áll.

Értekezése öt fő tématerületre koncentrál, ezekben összefoglalja:

1. a melanoma malignum epidemiológiáját, a magyarországi valós incidencia és mortalitás értékeket, valamint az incidencia/mortalitás (MIR) (Mortality-to-Incidence Ratio, mortalitás/incidencia arány) adatainak elemzését a NEAK, a KSH, a Nemzeti Rákregiszter valamint az az Országos Onkológiai Intézet adatbázisai alapján nemzetközi adatokkal összevetve.

2. Az őrszem nyirokcsomó és a primer tumor BRAF és NRAS mutációs státusz közötti összefüggés jelentőségét vizsgálja, figyelemmel a sentinel nyirokcsomó státusz prediktív jellegére, illetve a melanoma prognosztikus tényezőire 850 betegnél, akik esetében SLNB történt; további 159 betegnél a primer tumor BRAF és NRAS státuszának prediktív és prognosztikus értékét is elemezték az egyéb faktorok mellett.

3. A target terápia hatékonyságának és biztonságosságának vizsgálatát végezték ezen kezelési lehetőség Magyarországon történő elérhetőségének a folyamatát végig követve, kezdve a vemurafenib monoterápia, majd a vemurafenib+cobimetinib , utána a dabrafenib+trametinib kombinációs terápiák elemzésével a hatékonyság, biztonságosság és klinikai lefolyásra ható prediktív faktorok vizsgálatával.

4. Az ipilimumab terápia klinikai vizsgálatait két eredménycsoport adatait ismertetve tárlják. Bemutatják az anti-CTLA-4 (ipilimumab) hatóanyag korai vizsgálatainak során észlelt klinikai hatékonysági és toxicitási vizsgálati eredményeiket. Ezt követően kerül ismertetésre az a másik nagy multicentrikus nemzetközi klinikai vizsgálat, amelyben a 3 és a 10 mg/tskg ipilimumab terápia hatékonysági és biztonságossági adatait vetik össze egy randomizált kettős vak, hármas fázisú multicentrikus vizsgálatban.

5. Az anti-PD1 terápia hatékonyságát (terápiás válasz, PFS és OS), biztonságosságát, valamint a terápia prediktív paramétereinek meghatározását végezték 2015 márciusa és 2020 decembere között 222 előrehaladott melanómában szenvedő betegnél, akik NEAK finanszírozásban kaptak pembrolizumab vagy nivolumab terápiát.

A jelölt témaválasztása teljesen adekvált, hiszen a legnagyobb hazai melanoma centrumként igen gazdag páciens anyaggal volt alkalma dolgozni, és mint ilyen, színvonalas klinikai vizsgálatokba nyílt lehetősége becsatlakozni. A publikált eredmények hatása igen nagy jelentőségű, hiszen a ma alkalmazott kezelési gyakorlat, amivel sokkal több melanomás beteg életét lehet megmenteni, ezen klinikai vizsgálatokon alapul.

Az értekezés formailag megfelel az MTA doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeinek. Az értekezés formai részével kapcsolatban néhány kisebb hibára hívom fel a figyelmet a későbbi, kritikai megjegyzéseimet ismertető részben.

Az MTA doktori értekezés teljes terjedelme 110 oldal, mely az alábbi felépítést követi: 3 oldal részletes, az egyes alfejezeteket is bemutató *Tartalomjegyzék*, 3 oldal *Rövidítések jegyzéke*, 1 oldal *Bevezetés*, 13 oldal *Háttér*. Ezek után az összefoglalt ismeretek alapján a 4. *Célkitűzések és módszerek* fejezetben 17 oldalon ismerteti a dolgozat háttéréül szolgáló eredeti közlemények által vizsgálni szándékozott kutatásokat és az ahhoz szükséges módszereket. Eredeti tudományos megfigyeléseit az 5. *Eredmények* fejezetben 57 oldalon foglalja össze. Ez a fejezet tartalmazza az egyes vizsgálatok eredményeinek irodalmi adatokkal történő összevetését, majd ezt követi közel 20 oldalon a kutatás *Megbeszélés* 16 oldalban. Ezt követően a jelölt a főbb megállapításait 3 oldalban foglalja össze, amit a 7. *Irodalomjegyzék*, majd a 8. *Köszönetnyilvánítás* rész követ, és végül a 9. *Publikációk* fejezetben kerül megadásra az a 13 publikáció, ami a dolgozatban összefoglalt tudományos közleményeket sorolja fel.

Az irodalmi hivatkozások száma: 126, ezek többsége 2010 utáni közlemény.

Fenti általános értékelés után térek át a dolgozattal kapcsolatos konkrét észrevételekre és kérdésekre.

A dolgozat formai részével kapcsolatban néhány kissé szokatlan megoldást észleltem. Már a meglehetősen hosszú, 17 oldalas célkitűzések részben egy táblázat, (2. táblázat, „A betegek és a minták klinikai paraméterei responderekre és non-responderekre bontva”) kerül bemutatásra. Meglátásom szerint ennek inkább már az utána következő Eredmények fejezetben lenne a helye.

Hasonlóan, a Megbeszélés részbe került a 39. ábra: „A hazai melanómás betegek teljes túlélésének változása a 2001-2005, a 2011-2015 és a 2018-2019 közötti időszakban a Nemzeti Rákregiszter adatbázisa alapján” és 40. ábra: „A primer melanoma tumorvastagságának prognosztikus csoportok szerinti százalékos megoszlása 1998-ban és 2008-ban (Országos Onkológiai Intézet)”

Mindkét ábra a korábban ismertetett megállapításokat támasztja alá, világos üzenetet hordoz, és mivel saját eredményt közöl, így inkább ezeknek is az Eredmények részben lenne a helyük.

A dolgozatban összefoglalt tudományos közlemények száma: 13. A 13-ból 8 originális, angol nyelvű közlemény impakt faktoros folyóiratban közölve. Két publikáció 30-szerzős multicentrikus vizsgálati közlemény, a 10-es számon jegyzett cikk citációja a doktori munka alapját képező összes idézettség közel 4/5-ét adja.

A 13 megadott közlemény esetén összes impakt faktornak 79,147 míg összes citációnak 479, független citációnak 407 került megadásra a dolgozatban.

Fenti részletezésem az indokolja, hogy ezeket a szcientometriai paramétereket átnézve némi pontosítás látok kívánatosnak.

A szerző doktori munkájában feltüntetett összesített IF: 79,147, ez helyesen került megadásra. Ezzel szemben a dolgozatban megadott összes citáció: 479, holott az egyes közleményekhez megadott hivatkozások összege 457. Nem találtam helyesnek a független idézetek számát sem,

a megadott 407 helyett az egyes értékeket összeadva 389-as érték adódik. Ezek mellett észrevehető, hogy a 11. sorszámú Lancet Oncologyban megjelent 30 szerzős cikknél, aminek az impact faktora 36,418, nincsen megadva citáció. Saját keresés alapján a Web of Science adatbázisban 325 idézőt lehet találni erre a közleményre, nem világos, hogy ez a dolgozatban miért nem így szerepel.

Ezek pontosítását fontosnak látom az eljárás hitelessége miatt, ezzel együtt a numerikus adatokban tapasztalt eltérések nincsenek érdemi jelentőséggel a dolgozat tudományos értékére, hiszen két nagyon magas idézettségű közleményről van szó.

A leírt módszerek részletes ismertetése megfelelő, alkalmazásuk hitelessé teszik azok eredményeinek felhasználását.

A doktori tézisek egyes elemeit egymás után átvizsgálva teszem fel az egyes részekhez szánt észrevételeimet, kérdéseimet, amelyek az alábbiak:

“A melanoma halálozás szintén növekvő tendenciát mutatott a legtöbb országban, de kisebb mértékben, mint az incidencia. Az Amerikai Egyesült Államokban 1973-ban 2,2/100.000 lakos értéket találtak, 2002-ben pedig ez az arány 2,9-re növekedett.”

**Kérdésként intézem a jelöl felé, hogy hol tart ma ez az érték, megfigyelhető-e a növekedés lassulása az USA-ban?**

„Clark V.: Igen előrehaladott melanoma, a vertikális növekedési fázisban a szubkután zsírszövet is érintett.”

**Ennél a leírásnál egy szemléltető ábra feltüntetése szerencsés lett volna a témában kevésbé járatos olvasók felé**

A dolgozatban ez szerepel: „Okuláris melanómában BRAF mutáció nem fordul elő.”

**Ennek az állításnak a pontosítása szükséges, a helyes megállapítás, hogy uveális melanómában ez a mutáció nem fordul elő, de a szintén okuláris melanoma formához sorolt konjunktivális melanómában ennek az arányát az irodalomban 25-35%-ra teszik (ref: Larsen, A.C.; Dahl, C.; Dahmcke, C.M.; Lade-Keller, J.; Siersma, V.D.; Toft, P.B.; Coupland, S.E.; Prause, J.U.; Guldberg, P.; Heegaard, S. BRAF mutations in conjunctival melanoma: Investigation of incidence, clinicopathological features, prognosis and paired premalignant lesions. Acta Ophthalmol. 2016, 94, 463–470)**

“Szintén eredményesnek bizonyult az interleukin-2 terápia előrehaladott melanómában, amit főképp az Amerikai Egyesült Államokban használtak”

**Kérdésként intézem a jelölthöz, hogy vélekedése szerint az EU-ban miért nem volt törzskönyvezve az IL-2 terápia?**

„a Ferlay és munkatársai (GLOBOCAN) által becsült 14,0 incidencia és 2,9 mortalitási arányoktól. Szintén jelentős különbséget találtunk a nőknél általunk 2018-ra megállapított 20,13%-os incidencia és 1,66%-os mortalitás vonatkozásában. Ugyanez a fenti szerzőnél 13,20 és 2,10 volt.”

**Bár a dolgozat terjedelmi korlátokkal bír, kérném a jelöltet a GLOBOCAN, GCO módszerének kissé részletesebb ismertetéséről, hiszen jelentős eltérések észlelhetők a nemzetközi szervezet becslése és a hazai gyűjtött adatok között**

*„A magyarországi MIR értékek összehasonlítása az európai országokéval*

A melanoma magyarországi korstandardizált előfordulása hasonló az európai országokéhoz, a mortalitás tekintetében azonban közelebb állnak egymáshoz, az európai adatokkal mint incidencia vonatkozásában (4. ábra) [46].”

**Kérdezem, ezt a mondatot pontosítandó, hogy ezt a úgy kell érteni, hogy közelebb áll a mortalitás az európai átlaghoz, mint az incidencia?**

„A dél-európai nőbetegeket kivéve a MIR valamennyi régióban csökkent 2012 és 2018 között, ami a melanoma ellátás európai javulását tükrözi (4. táblázat).”

**Kérdés: ennek mi az oka, ebben a páciens körben miért nem észlelhető ez a csökkenés?**

A túlélést elemezve a szerző ezt a megállapítást teszi:

„A kizárási feltételek alkalmazását követően az első időszakban 4930, a másodikban 7476, míg a harmadikban 3636 eset maradt. A Kaplan-Meier görbéken jól látható, hogy a melanoma az időben felfedezett esetek magasabb aránya miatt a viszonylag kedvezőbb túlélésű malignitások közé tartozik, ezen felül megállapítottuk, hogy a referenciaidőszakhoz (2001-2005) képest mind 2011 és 2015, mind 2018 és 2019 között egyre javult a kimenetel (12. ábra).

**Kérdés: mi annak az oka, hogy 2001-2005 közötti 4 év alatt 4930, majd 2011-2015 között újabb 4 évben már közel 7500, majd 2018-2019 közötti 1 évben már 3636 esetet találtak a szerzők?**

„Egyváltozós vizsgálatban a SLN státusz [...] volt, azonban ez az eltérés sem mutatott statisztikailag szignifikanciát (11. táblázat)”

**Kérdés: Ez egy igen figyelemre méltó megállapítás, elképzelhető-e, hogy az elemszám emelésével a statisztikai szignifikancia megjelenik és ha esetleg igen, akkor milyen molekuláris magyarázat adódna ennek a ténynek a magyarázatára? Ezt mások vizsgálták-e, van-e arra ismeret, hogy előnyt jelenet a metasztázis kialakulására a mutáció?**

„Az NRAS mutáció a PFS szignifikáns negatív prediktora volt többváltozós analízissel ( $p=0,047$ ) és közel szignifikánsnak találtuk a DMFS értékkel összefüggésben ( $p=0,06$ ) is. Többváltozós elemzésben a primer tumor BRAF mutációja és a betegség kimenete között nem találtunk statisztikailag igazolható összefüggést.”

**Kérdés: az elemszám mindig kritikus a statisztikai elemzéshez, a jelölt véleménye szerint n-ras mutáció jelenléte akkor miként hat a túlélésre?**

„A betegek 46%-a az adatok zárásakor még életben volt. A leghosszabb ideig vemurafenib terápiában részesült beteg 26 hónapja progressziómentesnek bizonyult a vizsgálat lezárásának idejében. A cerebrális metasztázisú alcsoport terápiára adott válaszát vizsgálva (6 beteg) 50%-os remissziós rátát igazoltunk (3 beteg), ezen belül 1 betegünk komplett, 2 beteg parciális remisszióba került. 3 betegnél (50%) progresszív betegséget észleltünk. A medián PFS cerebrális metasztázis esetén 4,5 hónap volt, a medián OS 6,8 hónap.”

**Az adatokat olvasva megállapítható, hogy relatíve kicsi az esetszám. A kérdés, hogy más centrumok adatai vannak-e közölve és nagyobb számú betegnél vajon milyen összefüggés lenne megállapítható?**

„A leggyakrabban jelentkező gyógyszerrel összefüggő nemkívánatos események a follicularis hyperkeratosis, fotoszenzitivitás, maculopapulosus rash, arthralgia voltak. A mellékhatások 52%-a a bőrrel összefüggő mellékhatás volt.”

**Megjegyzés: a „rash” helyett magyar megfelelő itt helyesebb lett volna – különösen, mivel egy későbbi táblázatban, helyesen, már kiütés szerepel.**

„Második target terápiais vizsgálatunkban 118 BRAF pozitív, metasztatikus melanómában szenvedő, OEP/NEAK finanszírozás keretein belül BRAF-MEK gátló kezelésben részesült betegeinkkel szerzett klinikai tapasztalatainkat összegeztük. Célunk a terápia hatékonyságának megállapítása, valamint a mellékhatások feltérképezése volt. 2015 novembere és 2018 decembere között 118 betegünkél (100,0%) alkalmaztunk kombinációs kezelést. 80 (67,8%) beteg kapott dabrafenib+trametinib kezelést, 38 (32,2%) beteg vemurafenib+cobimetinib terápiát. A betegpopulációs adatokat a 17. táblázatban részletezzük.”

**Kérdés: Ebben az időszakban létezett a két készítmény közül milyen választást írt elő a NEAK finanszírozási gyakorlata és ez retrospektíve mennyire korrelált a nemzetközi terápiais gyakorlattal?**

„Mindkét kombinációs terápiával 90%-os betegségkontroll rátát értünk el. Komplet remissziót 6-6 beteg esetében (15% vemurafenib+cobimetinib kombinációval, 7% dabrafenib-trametinib kombinációval) mutattunk ki. A terápia kezdetekor mért normál értéket meghaladó LDH szint és a progressziómentes túlélés között a vemurafenib+cobimetinib csoportban ( $p=0,0184$ ), valamint a dabrafenib+trametinib csoportban ( $p=0,0042$ ) is szignifikáns negatív összefüggést mutattunk ki, a teljes túléléssel azonban az LDH szint csupán a dabrafenib+trametinib csoportban mutatott szignifikáns összefüggést ( $p=0,0056$ ) (28-30. ábra).”

**Kérdés: Milyen időpontig vizsgálták a betegeket, és mi a magyarázat arra, hogy LDH szint csupán a dabrafenib+trametinib csoportban mutatott szignifikáns összefüggést? Van-e ennek jelentősége a terápia választásakor?**

„Százalékos különbséget találtunk a progrediáló és nem progrediáló betegeknél a 12. és 16. héten a terápia megkezdésekor mért vérsejtsüllyedés vonatkozásában, ami a 24. hétre szignifikánsnak bizonyult.”

**Megjegyzésként javasolom vörösvértest süllyedésre változtatni a vérsejtsüllyedést, illetve a szintén itt említett ESR rövidítés helyett is ennek a használatát javasolom**

„BRAF mutációt 50 betegnél (22,5%) mutattunk ki.”

**Kérdezem, hogy ha a normál populációban ezt 40-60% között adják meg akkor ebben a vizsgálati anyagban ez miért jelentősen más?**

„Azoknál a betegeknél, akiknél nem lépett fel autoimmun mellékhatás, a medián túlélés 5 hónap volt, autoimmun mellékhatások esetében pedig 59 hónap (36. ábra).”

**Ez egy igen jelentős, 10-szeres nagyságrendű különbség, az irodalomban is ilyen jelentős eltérést írtak le? Mi lehet ennek az oka, milyen molekuláris mechanizmusok kerültek említésre a saját és mások eredményei alapján?**

„A sikeres szekunder prevenciót demonstrálják az Országos Onkológiai Intézet adatbázisából nyert eredmények is. Összehasonlítva az 1998-ban és 2008-ban rögzített újonnan diagnosztizált melanomák adatait, a korábbi évben 149, tíz évvel később 377 kután melanomát regisztráltunk, ami 153%-os növekedést jelent, ez az incidencia növekedésére utalhat országos kitekintésben is.”

**Megjegyzés: Ezzel a kijelentéssel kissé óvatosnak kell lenni, mivel Magyarországon számos egyéb onkológiai centrum is lát el melanomás beteget, az, hogy a páciens éppen hová fordul, számos tényező határozza meg. A trend ezzel együtt jól bemutatható a saját intézeti számokkal is.**

„Eredményeink arra utalnak, hogy különösen idősebb multimorbid betegeknél, akik számára a diagnosztikus műtét megterhelést jelent, a primer tumor NRAS mutációját az SLNB indikációjánál figyelembe vehetjük, hiszen az NRAS pozitív primer tumor a sentinel nyirokcsomó státusztól függetlenül is prognosztizálhatja progresszió kialakulását.”

**Kérdés: Ez a hatályos finanszírozói elvárással miként egyeztethető össze? Ez jelenti-e azt, hogy ezeknél a betegeknél SLNB nem is kerül elvégzésre?**

„Hosszú, 61 hónapos minimális követési idővel végzett elemzés is bizonyította a magasabb dózis előnyét a túlélésben, az OS-nél elért plató pedig megfelelt az egyéb ipilimumab tanulmányok eredményeinek, de a magasabb dózisonál a terápiához köthető nemkívánatos események aránya is magasabb volt a 10 mg/tskg-os csoportban. BRAF pozitivitás esetében a túlélési eredmények jobbak voltak, ez eltér saját eredményeinktől, ahol a BRAF (és NRAS) mutáció és a terápia hatékonysága között nem találtunk összefüggést ipilimumab valós klinikai körülmények között történt alkalmazásánál.”

**Kérdés: Hatékonyságban a 10 mg-os adagolás lényegesen jobb, mellékhatás tekintetében viszont csak relatíve kissé rosszabb, vajon miért. nem törzskönyveztek egy magas dózisú adagolást, amit esetleg. egy dózis redukció követhet, ha a páciens mellékhatásai nem engedik meg a magasabb dózisú alkalmazást? Azért zárkózott-e el a cég ettől, mert időközben befogadásra került anti-PD-1 terápia, amivel jobb terápiás eredmények érhetők el kisebb toxicitással, mint ezt a szerző maga is felveti?**

„Vizsgálatunkban olyan betegek tumorszövetét analizáltuk, akiknél a sebészi mintavétel és az ipilimumab terápia megkezdése között nem telt el egy évnél hosszabb idő. Ezt annak érdekében határoztuk meg beválasztási kritériumként, hogy csökkentsük az immunológiai mikrokörnyezet megváltozásának esélyét.”

**Megjegyzés: Ez milyen indikációból alkalmazott ipilimumab terápia volt? Adjuváns vagy kuratív?**

„Kután/szubkután áttéteknél a CD68+ makrofágok és a CD16+ sejtek mind a terápiás válasz, mind pedig a túlélés prediktorai voltak egyváltozós vizsgálattal.”

**Kérdés, hogy ezen sejtek milyen molekuláris útvonalon keresztül hatnak pozitívan vagy negatívan a túlélésre?**

Gépelési hibák, nyelvi elírások relatíve kevés esetben fordulnak elő, ezek közül néhányat illusztrációként adok meg, de mindenképpen kiemelem a legfontosabbat, hogy a dolgozat címében is szereplő melanoma és melanóma írásmód elvétve ugyan, de keveredik (utóbbi pl. 45. oldal)

adverse helyett adverz javasolt (33-ik oldal)  
jelentkezet jelentkezett helyett, 52-ik oldal  
hatkékonyságot helyett hatékonyságot, 71-ik oldal  
alacsonyab helyett alacsonyabb, 82. oldal

A felsorolt kérdéseket, észrevételeket összefoglalva elmondható, hogy az értekezésben ismertetett közlemények tudományos eredményeit, a disszertációt alkalmasnak tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez.

A fentiek alapján javaslom a nyilvános vita kitűzését.

Budapest, 2023 július 16.

Dr. Wikonkál Norbert Miklós  
egyetemi tanár  
az MTA doktora