

OPPONENSI VÉLEMÉNY

Dr. Tóvári József

„A tumor környezetének hatása a daganatok progressziójára”

című MTA doktori értekezéséről

A doktori értekezés témája:

Dr. Tóvári József MTA doktori dolgozatában a daganatsejteket érő környezeti hatások szerepének vizsgálatát és a daganatsejtek működésének pontosabb megismerését tűzi ki célul. A daganatos megbetegedések népbetegség jellege, vezető halálóki szerepe, a malignus daganatos betegségek okozta egyéni és társadalmi terhek alátámasztják a téma fontosságát. A doktorjelölt kutatásainak fókuszában két egymással összefüggésben álló folyamat, a daganatsejtek mozgásának és hipoxiára adott viselkedésének tanulmányozása áll. A téma rendkívül nagy jelentőségű a malignus daganatok működésének, az áttét-képzés okainak és mechanizmusának megértésében. A rendkívül aprólékosan megtervezett és következetesen végrehajtott kutatások alapján született eredmények alapvető és a gyakorlatban, a daganat-terápiában is hasznosítható ismereteket szolgáltatnak.

Az értekezés részletes bírálata:

Formai és stiláris szempontok:

A doktori értekezés összesen 162 oldalból áll, amiből 6 oldal a tartalomjegyzék és a rövidítések listája. Ezt követi egy 30 oldalas bevezetés fejezet, mely igen részletes áttekintést ad a kutatás háttéréről, a tumorsejtek beereződési folyamatairól, a (daganat)sejtek mozgásáról, a daganatsejtek és az extracelluláris mátrix viszonyáról, valamint a hipoxia és a vérszegénység daganatokra gyakorolt hatásáról. A szerző 1 oldalon tömören és világosan ismerteti célkitűzéseit. Az anyagok és módszerek fejezet rendkívül alaposan, 33 oldalon mutatja be az alkalmazott széles módszertani palettát. Az eredményeket 35 oldalon ismerteti és további 20 oldalon diszkutálja a szerző, valamint összegzi következtetéseit és új megállapításait. A dolgozat végén 26 oldalas irodalomjegyzék található, illetve a saját közlemények kivonatai.

Az értekezés alaki és formai szempontból megfelel az elvárható követelményeknek. A dolgozat egyes részei a kutatási téma jellegének megfelelően arányosak, az értekezés jól áttekinthetően szerkesztett, pontos, helyesírási hibát elvéve találni. A dolgozat 56 ábrát és 13 táblázatot

tartalmaz, melyek jó minőségűek, segítik az írott szöveg megértését. A felhasznált irodalmi hivatkozások relevánsak, jól illeszkednek a témához, naprakész információkat hordoznak.

Az értekezés témájának és célkitűzéseinek értékelése:

A doktori értekezés témája a daganatsejtek mozgásának és hipoxiás környezetben való viselkedésének tanulmányozása. Az 5 konkrét célkitűzés közül 2 a daganatsejtek mozgását vizsgálja háromdimenziós modellben, illetve oligoszacharidok hatására. További 1-1 célkitűzés foglalkozik a hipoxia daganatsejtek mozgására és áttétképzésére gyakorolt hatásával, a hipoxia indukálta vaszkulogenezissel, illetve a hipoxia korrekciójára alkalmazott eritropoetin daganatokra kifejtett hatásával.

Az áttétképződés napjainkban is a legnagyobb kihívást jelenti a daganatok klinikai kezelésében. A sejtek mozgékonyasága alapvető és ősi sejtviselkedés, amely hozzájárul a metasztatizáció kialakulásához. A sejtmozgás molekuláris mechanizmusai összefonódnak a sejtek túlélésével, és ez a kapcsolat valószínűleg az áttétképzés szempontjából is meghatározó. Így a daganatok mozgásának tanulmányozása rendkívül fontos és izgalmas része a tumorbiológiának. A tumor környezet egyik legfontosabb jellemzője a daganat oxigén-ellátottsága. A primer tumorok jelentős részében alacsony molekuláris oxigénszint (hipoxia) és korlátozott tápanyag-hozzáférés figyelhető meg a szövetek rossz érrendszeri ellátottsága miatt. A hipoxiás tumorok képesek szabályozni bizonyos gének és jelátviteli molekulák kifejeződését, amelyek az agresszívebb fenotípus felé tolják el a tumor viselkedését. A hipoxia tumorsejtek mozgására, érétképzésére, metasztatizációjára gyakorolt hatásainak megismerése így fundamentális jelentőségű a daganat viselkedésének megértésében és kezelésében.

Az értekezés során alkalmazott módszerek értékelése

A jelölt a tumorbiológia csaknem teljes eszköztárát felvonultatja a vizsgálatok során, láthatóan rendkívül magabiztosan választja ki és alkalmazza a kísérletekhez az optimális módszereket. A kísérleti eszköztárban az általános sejt-alapú módszerek (tenyésztés, proliferációs, klonogén, apoptózis vizsgálatok) mellett megtalálhatók innovatív sejt-migrációs és adhéziós technikák is. Ugyanakkor immun- és elektronmikroszkópos módszereket, molekuláris biológiai technikákat (pl. valós idejű RT-PCR, géncsendesítés), fehérje kimutatási módszereket (pl. Western-blot) is biztosan alkalmaz. Mindezek mellett állatkísérletes modellek segítségével, illetve humán klinikai adatok felhasználásával igazolja az *in vitro* kapott eredmények alapján felállított hipotéziseit. A vizsgálati minták száma, jellege és minősége megfelelő a célkitűzésben megfogalmazottak elvégzéséhez. Összegezve, a doktori értekezés vizsgálatait során alkalmazott

módszerek minden tekintetben alkalmasak a kitűzött célok vizsgálatára, korszerűek, és adekvát módon kerülnek alkalmazásra.

Scientometriai szempontok

Az MTA doktori mű alapjául 16 angol nyelvű és 3 magyar nyelvű *in extenso* közlemény szolgált. Az angol nyelvű közlemények közül 13 esetében állapítható meg jelölt vezető szerepe (első vagy utolsó szerző). A közlemények összegzett impakt faktora 75,651, az ezekre kapott citációk száma 1199. A jelölt összesen 96 *in extenso* szakcikk és 11 összefoglaló közlemény szerzője/társszerzője, melyekre összesen 2911 hivatkozást kapott. Mindezen mutatók alapján megállapítható, hogy jelölt tudományos aktivitása jelentősen meghaladja az MTA doktori eljárásban a szakterületen elvárt küszöbértékeket.

Az értekezésben bemutatott tudományos eredményekkel kapcsolatban *kérdéseim és megjegyzéseim a következők:*

1. A HT1080 fibroszarkómasejtek mozgására új modellt írtak le, melynek lényege, hogy új adhéziók kizárólag a sejtek frontján keletkeznek, és ezeket az adhéziós plakkokat az elmozdulás irányára merőleges, enyhén ívelt aktinszálak kötik össze. Az aktinszálak vastagsága erősödik a sejtben hátrafelé, amiknek végül a sejt oldalsó hátsó felén található adhéziók feltépésében van szerepük. **Van-e arra vonatkozóan adat, hogy az adhéziós plakkok keletkezésükkor milyen távolságra helyezkednek el egymástól, illetve ez a távolság hogyan változik (nő) a sejt mozgása során? Mi okozza az aktinszálak vastagodását a sejt hátsó felére történő áthelyeződés során? Mennyire általános ez a motilitás forma a daganatsejtek esetén?**
2. Vizsgálatai szerint a heparin és heparin-származékok antimetasztatikus hatással rendelkeznek. **Ezek alapján daganatos betegségek esetén különbséget kell-e/érdemes-e tenni az antikoagulálásra alkalmazott készítmények között? Azaz, a daganatos betegek antikoagulálására elsősorban heparin származékok ajánlhatók onkológiai szempontból?**
3. Jól ismert, hogy melanóma esetén a szérum laktát dehidrogenáz (LDH) szint fontos prognosztikai marker. Mivel az LDH és a hipoxia/HIF-1 α között szoros kapcsolat áll fenn, **elképzelt-e, hogy az LDH szint-emelkedés (legalábbis részben) a melanómasejtek HIF-1 α mediált motilitás-növekedése révén függ össze a daganat-progresszióval? Ismert-e adat a magas/alacsony LDH szintű melanóma betegek esetén a tumorsejtek motilitásával kapcsolatban?**

4. Vizsgálatai során igazolta, hogy az rHuEPO α különböző (legalább 3 féle) módon képes befolyásolni a daganatok növekedését. Feltételezhető ugyanakkor, hogy a rHuEPO α nem csak a már kialakult áttétekre van hatással, hanem befolyásolhatja a daganatok metasztatizáló képességét is. **Végeztek-e ezirányú vizsgálatokat? Befolyásolja-e például az rHuEPO α a daganatsejtek motilitását, extravazációját, kitapadási képességeit?**
5. A humán tüdőrák tumormintákban észlelt magasabb EPOR-expresszió a betegek hosszabb átlagos túlélésével korrelált. **Mi lehet ennek a magyarázat? Illetve mi magyarázhatja, hogy bizonyos esetekben a rHuEPO α alkalmazása a daganatos túlélés rosszabbodását eredményezte humán klinikai vizsgálatokban?**

Új megállapítások

A fenti kérdésekre és észrevételekre adott válaszoktól függetlenül a jelölt új tudományos eredményeinek fogadom el a következőket:

1. Elsőként mutatta ki, hogy egy humán fibroszarkóma-sejtvonal a hal epidermiszsejtekére (nem a fibroblasztokra) jellemző úgynevezett GRE-moddellel leírható morfológiát mutat két- és háromdimenziós mozgása során.
2. Elsőként igazolta, hogy a heparinok – a véralvadást befolyásoló hatástól független módon – gátolják humán melanómasejtek *in vitro* migrációját és invázióját, valamint kísérletes rendszerekben az *in vivo* tüdőkolonizációját.
3. Leírta, hogy a magasabb alapmotilitási készséggel rendelkező daganatsejtvonalak hipoxiában nagyobb *in vitro* mozgási aktivitást mutattak, amely befolyásolja azok *in vivo* áttétképző képességét is. Kimutatta, hogy ez a hatás HIF-1-függő, és a kis G-fehérjék (RhoA, Rac, cdc42) kulcsszerepet játszanak benne.
4. Elsőként számolt be arról, hogy klinikai tüdőrákmintákban a csontvelői őssejtekből eredő keringő endoteliális progenitorsejtek (EPC-knek) száma megemelkedik és az EPC-knek (amik beépülnek a daganatokba is) diagnosztikus és prognosztikus jelentőségük van.
5. Elsőként igazolta, hogy rHuEPO-kezelés hatására fokozódik az intratumorális endotélsejtek proliferációja, ami fokozta a kemoterápiás szerek antitumorális hatását és a daganatok sugárérzékenységét.
6. Elsőként írta le, hogy az EPOR-expresszió nem jelentett rossz prognózist a kísérletes tumor-modellekben, illetve, hogy III-IV. stádiumú tüdő-adenokarcinómás betegek esetében épp az alacsonyabb EPOR-expresszió társult a rosszabb prognózissal.

Összefoglalás, javaslat

Tóvári József doktorjelölt értekezése rendkívül magas színvonalú tudományos kutatómunka eredményeinek összefoglalása. A doktori értekezésből egyértelműen egy a daganat-kutatásban széleskörű ismeretekkel, alapos és szerteágazó metodikai jártassággal, valamint kreatív gondolkodásmóddal rendelkező kutató képe rajzolódik ki. Tekintettel arra, hogy a jelölt korábbi tudományos fokozata megszerzése óta végzett önálló kutatói munkássága kellően dokumentált a doktori műben, javaslom az értekezés nyilvános vitára tűzését, és a jelölt részére az 'MTA Doktora' cím odaítélését.

Pécs, 2023. április 28.

Dr. Gyulai Rolland
egyetemi tanár, az MTA doktora