

OPPONENSI VÉLEMÉNY

DR. FERENCZ ANDREA

„A VÉKONYBÉL AUTOTRANZPLANTÁCIÓ KÍSÉRLETES VIZSGÁLATA ÉS KÜLÖNBÖZŐ KLINIKAI KÓRÁLLAPOTOK TERMOANALITIKAI MONITOROZÁSA”

című doktori értekezéséről

Témaválasztás

A szervátültetés klinikai bevezetése a modern orvostudomány és ezen belül a sebészet fejlődésének egyik legjelentősebb mérföldköve. Az elmúlt több, mint fél évszázadban a különböző szervek/szövetek átültetésének eredményei jelentősen javultak, ami elsősorban új immunszuppressziós gyógyszerek, ill. a szervek/szövetek jobb „tartósítására”, működésük megőrzésére kifejlesztett új módszerek ill. hatóanyagok alkalmazására vezethető vissza. Ez utóbbi problémakör középpontjában a minden átültetett szervhez kapcsolódó speciális noxa, az ún. ischaemias-reperfúziós (IR) károsodás kivédése, ill. hatásainak csökkentése áll. A kutatási terület szorosan kapcsolódik a klinikumból jól ismert egyéb gyakori, a perfúziós/keringési zavarra visszavezethető súlyos állapot kérdésköréhez is (ischaemiás szívbetegségek, cerebrális keringési zavar/stroke, perifériás verőerek, mesenterialis erek elzáródása stb). **A dolgozatban szereplő kísérletes vizsgálatok jelentős része ezen kiemelt fontosságú témához kapcsolódik.**

Az orvosi kutatások folyamatos érdeklődést mutatnak olyan módszerek kifejlesztésére is, melyek képesek „egy csepp vérből” számos különböző eredetű daganatos vagy akár gyulladásos/immunológiai eredetű kórkép korai diagnózisára vagy akár lefolyásuk monitorizálására. A differenciál pásztázó kalorimetria (DSC) egy termoanalitikai technika, amelyet kezdetben szerves anyagok kutatásában alkalmaztak, de az elmúlt évtizedekben különböző biológiai struktúrák változásának ex vivo elemzésére alkalmasnak találták. **A dolgozat másik kiemelt témája a DSC tesztelése számos különböző klinikai kórképben, mint a melanoma malignum, az emlőtumor, a pancreatitis és a pancreas daganat valamint a psoriasis.**

Mindezek alapján a témaválasztások korszerű, aktuális és a betegágy mellől kiinduló problémákra keresnek választ kísérletes és klinikai vizsgálatokban.

Formai szempontok

Az értekezés 166 számozott gépelt oldalból áll (irodalom-, közleményjegyzék, scientometriai adatok, köszönetnyilvánítás nélkül), több, mint száz ábrát és több, mint 20 táblázatot tartalmaz. Az ábrák számozási logikája nem világos és feltehetően hibás (2.15. ábra után 1.26. ábra majd 2.27. ábra következik, ill. fejezetenként újra indul a számozás). Egyebekben a dolgozat felépítése jó, az eredményeket a felvetett két fő témához csoportosítja, és ehhez illeszti az egyes témák diszkusszióját is. Nyelvezete egységes, elütések, nyelvi/fogalmazásbeli hibák száma nem jelentős.

I. A vékonybél meleg és hideg ischaemias és reperfúziós károsodásának és kivédési lehetőségeinek vizsgálata kísérletes állatmodellekben

Tartalmi szempontok, megjegyzések/kérdések

A Szerző a bevezetésben jól foglalja össze a téma előzményeit, és idézi a munka háttéréül szolgáló legfontosabb irodalmat. A dolgozatban idézett irodalmi hivatkozások jól reprezentálják a kutatási témát, a legfontosabb módszereket és a megbeszéléséhez szükséges utalásokat.

Módszertan: a jelölt jól megtervezett, a feltett kérdések megválaszolására alkalmas kísérleti modelleket használ és a metodikák széles palettáját alkalmazza.

Eredmények:

1. Kísérletes patkány modellben igazolták, hogy a különböző időtartamú meleg I/R hatására fellépő oxidatív károsodás és hisztológiai változások az ischaemiás idővel valamint az artériás vér sav-bázis eltolódásokkal arányosak.

Az ischemia bélkárodódások korai felismerése rendkívül lényeges kérdés a klinikai gyakorlatban az eddigi vizsgálati eredményei ill. kutatási tapasztalatai alapján hogy alkalmazná a vér sav-bázis eltolódásait a korai diagnosztikában?

2. Vékonybél autotranszplantáció kutyamodellben a vékonybél különböző összetételű oldatban és különböző ideig tartó hideg tárolása a prezerváció idejével arányos módon önmagában is csökkentette a bél szöveti károsodását. Az EC (EuroCollins) oldattal szemben a UW (Univ. Wisconsin) oldatban való konzerválás előnyösebb volt a szöveti szerkezet és a vér sav-bázis értékei tekintetében egyaránt.

Milyen változtatásokat javasolna a jelenlegi konzerváló oldatok összetételében az I/R károsodások csökkentése érdekében?

3. Béltranszplantációs állatmodelleken az ischaemiás prekondicionálás mindkét formája (korai, késői), és az ischaemiás posztkondicionálás is csökkentette a szöveti destrukciót, melynek magyarázatában az NF-kappaB transzkripciós faktor aktivációja után kialakult citoprotekciót igazolták.

Az ischaemias kondicionálás rendkívül érdekes és egyben ígéretes területe az I/R kutatásoknak, azonban klinikai alkalmazása egyelőre limitált. A fejezethez kapcsolódó diszkusszió ugyan foglalkozik röviden a kérdéssel, de egy bizonyos szintén ígéretes módszert nem említ, mint a távoli ischaemias kondicionálás (Remote ischemic preconditioning, RIPC) lehetőségét (Hummitzsch L et al J Transl Med. 2019; 17: 136).

Kérdéseim a Szerzőtől, hogyan látja az ischaemiás kondicionális módszerek alkalmazhatóságát a klinikumban és különösen a távoli IPC-t? Terveznek-e RIPC-vel kapcsolatos kísérletes vizsgálatokat?

4. A bélfal izomrétegének – hagyományos szövettani vizsgálattal nem detektálható – változásait a bélfal szétválasztott rétegeinek DSC termoanalízise igazolta. Az izomfehérjék esetében a hideg ischaemia okozta a legnagyobb szerkezeti változást.

Ez az új megfigyelés milyen lehetőségeket biztosít a jövőben az I/R kutatásokban?

II. A dolgozat másik jól elkülönülő része a differenciál pásztázó kalorimetriás (DSC) módszer vizsgálata **humán daganatos és gyulladáshoz kapcsolódó kórképekben.**

A Szerző megfelelően mutatja be az újnak számító módszer lényegét és a vizsgálat tárgyául szolgáló daganatos és gyulladáshoz kapcsolódó megbetegedések klinikai jelentőségét.

Eredmények

1. DSC segítségével összefüggést mutattak melanoma malignum miatt operált betegeknél a tumor vastagság, a helyi tumor invázió, a regionális nyirokcsomó érintettség, a távoli metasztázisok és a termikus változások között.

A vizsgálatba összesen 36 melanomás beteget és 5 korban illesztett egészséges beteget (kontroll) vontak be. Az első kérdés, mely az olvasóban felmerül, hogy a melanomás betegeknek volt-e társbetegsége, milyen volt a BMI, bőrtípus, egyéb bőrgyógyászati társbetegség (pl. dysplasiás naevus szindróma), kor szerinti eloszlás? Mit jelent a kor szerinti illesztés a kontroll betegek esetén? Hogyan lehet következtetést levonni, ha az egyes csoportokban (Breslow, Clark beosztás alapján) zömében 2-3 beteg szerepelt? Miért nem vettek mintát a műtétet követően betegektől?

2. Emlődaganatos beteg vérplazmájának DSC elemzése összefüggést mutatott a tumor méretével, valamint az axilláris nyirokcsomó daganatos érintettségével.

Összesen két vizsgálat történt, az elsőbe 19 emlődaganatos beteget és 10 kontroll beteget vontak be, míg a második vizsgálatban mindösszesen 11 emlődaganatos beteg adatait elemezték. A vizsgálatból nem derül, hogy e betegeknek volt-e társbetegségük, milyen volt az átlagos BMI-ük, egyéb tumoros anamnesis, genetikai terheltség (pl. BRCA pozitívitás?), milyen szövettani jellemzőjük volt a daganatoknak az I. vizsgálatban (ductális?, lobuláris? egyéb jellemzők?, grading? receptor status?), kontroll betegek kiválasztása? Történt-e a sebészi kezelést követően vérmintavétel?

Az első két vizsgálatra utalva, nem világos, hogy korai stádiumú daganatos betegeknél (melanoma, emlő DCIS/invasív daganat), a daganatmentességet biztosító sebészi beavatkozást (teljes gyógyulás) követően miért nem végeztek mintavételt, mely számos kérdésre választ adhatott volna? Pl. normalizálódnak-e a DSC paraméterek? stb....

3. A Szerzők megállapították, hogy krónikus hasnyálmirigy-gyulladásban szenvedő betegek vérplazma DSC-görbéinél a termikus átmenetek a kontrollokhoz képest jelentősen eltolódtak az alacsonyabb hőmérsékleti értékek felé. Míg pancreas tumor esetén új és magasabb hőmérsékleti tartományba tolódott denaturációs hőmérsékletek jelentek meg és a kalorimetrikus entalpia csökkenő tendenciát mutatott főként az inoperábilis esetekben.

Az olvasó számára szintén nem egyértelmű, hogy homogén betegcsoportok kerültek-e összehasonlításra? Számos adat hiányzik (BMI, társbetegségek, genetikai elérések, tumoros anamnesis stb). Az egyik legfurcsább a pancreas daganatos betegeket érintő vizsgálattal kapcsolatosan, hogy a csoportosítás az operabilitás alapján történt. Létezik klinikai és pathológiai TNM klasszifikáció, melyekkel az egyes daganatok pontosabban jellemezhetők. Az operábilis eseteknél az eltávolított specimének pathológiai stádiuma pontosan megadható (erről csak hiányos utalás van a disszertációban), ráadásul az eredményekben 5 adenomás esetről is beszél a Szerző, ami zavarossá teszi az összehasonlítást. Ezek az esetek feltehetően Vater papilla adenomás (adenoc?) betegek, melyek kliniko-pathológiai-biológiai tulajdonságai teljesen eltérnek a klasszikus hasnyálmirigy daganatos betegektől. Mindezek alapján az eredményekből következtetés levonása csak nagyon óvatosan tehető meg.

4. A legnagyobb számú betegbevonással járó 3. vizsgálatban, psoriasisos betegeknél kimutatták, hogy a betegség súlyossága és a vérplazma termoanalitikus paraméterei között összefüggés sejthető. A termoanalízis eredményei azt támogatják, hogy a hagyományos szisztémás gyógyszeres (citosztatikum, retinoid) kezeléssel szemben a biológiai válaszmódosító szerek hatására a plazma hő stabilitásának javulása észlelhető.

A DSC-vel kapcsolatos kutatások több mint két évtizedes múltat tekintenek vissza, és a Szerző és munkacsoportja ezen a területen ígéretesnek tűnő pilot vizsgálatokat végzett. Megállapította, hogy a humán vérplazmának különböző betegségekre jellemző termikus paraméterei vannak, melyek összefüggést mutathatnak a betegség (daganat, akár gyulladás) súlyosságával ill. a kezelésre adott válaszokkal. Véleményem szerint egyértelmű következtetéseket levonni, a viszonylag alacsony betegszám és a betegcsoportok nem egyértelmű homogenitása miatt csak nagyon korlátozottan lehetséges.

Legfontosabb új eredmények

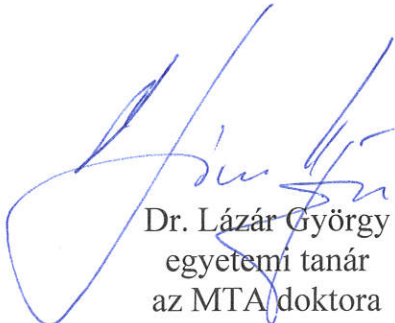
1. Kísérletes állat modellben igazolták, hogy a különböző időtartamú meleg I/R hatására fellépő oxidatív károsodás és hisztológiai változások az ischaemiás idővel valamint az artériás vér sav-bázis eltolódásokkal arányosak. A reperfúziókor alkalmazott ischaemiás posztkondicionálás és az intravénásan adott exogén PACAP38 egyaránt mérsékeli a káros következményeket.
2. Vékonybél autotranszplantáció kutyamodellben a hideg konzerválás a prezerváció idejével arányos módon önmagában is csökkentette a bél szöveti károsodását. Az EC (EuroCollins) oldattal szemben a UW (Univ. Wisconsin) oldatban való konzerválás előnyösebb volt a szöveti szerkezet és a vér sav-bázis értékei tekintetében egyaránt.
3. Béltranszplantációs állatmodelleken az ischaemiás prekondicionálás mindkét formája (korai, késői), és az ischaemiás posztkondicionálás is csökkentette a szöveti destrukciót, melynek magyarázatában az NF-kappaB transzkripciós faktor aktivációja után kialakult citoprotekciót igazolták.
4. Ugyanezen a modellben megfigyelték, hogy a bél graft szöveti PACAP38 és PACAP27 immunreaktivitása a tárolási idővel arányos módon csökken. A bél konzerváláshoz alkalmazott oldathoz adott PACAP megemeli a bél immunreaktivitását, és csökkenti az oxidatív és szöveti károsodás mértékét. A hatás magyarázatául az intracelluláris kináz útvonalainak aktiválását ill. a gyulladáshoz citokinek és kemokinek expressziójának gátlást találtak.
5. Megállapította, hogy a differenciál pásztázó kalorimetriás (DSC) módszer alkalmazásával, a humán vérplazmának különböző betegségekre jellemző termikus paraméterei vannak, melyek összefüggést mutathatnak a betegségek (daganatos akár gyulladáshoz) súlyosságával ill. a kezelésre adott válaszokkal.

Állásfoglalás

A véleményemet összegezve úgy foglalom állást, hogy doktori értekezése mind formai, mind tartalmi szempontból megfelel az MTA doktori fokozattal szemben felállított kívánalmainak. A Jelölt a nagy kísérleti és klinikai anyagot felölelő munkájával igazolta, hogy választott szakterületén magas szintű ismeretanyaggal rendelkezik. Az értekezésbe foglalt eredmények jelentős részét magas szintű, nemzetközi folyóiratokban leköszölte. Mindezek alapján javaslom a Bizottságnak Dr. Ferencz Andrea doktori értekezésének nyilvános vitára való bocsájtását.

A Jelöltnek további hasznos és sikeres munkát kívánok.

Szeged, 2023. június 14.



Dr. Lázár György
egyetemi tanár
az MTA doktora