

## Válasz Jeney András professzor bírálatára

Nagyon köszönöm Jeney András Professzor Úrnak, hogy elvállalta doktori disszertációm értékelését, és hogy rendkívül tanulságos, eredeti és előremutató megjegyzéseivel, kérdéseivel konstruktív bírálatot adott.

Professzor Úr elsőként a casting meszesedést adó emlőrákok publikációnként eltérő gyakoriságáról, nemzetközileg észlelhető előfordulásáról, a castingos esetek szűréssel történő felismerhetőségéről kérdez. A casting meszesedést adó emlőrákok felismeréséhez, értékeléséhez mindenekelőtt jó minőségű szűrés, a Tabári nomenklátúra elfogadása, szigorú alkalmazása, reprezentatív statisztikához pedig nagyszámú adat prospektív gyűjtése szükséges. A legnagyobb adattömegben alapuló, és igazán autentikus feldolgozások Tabár Lászlótól származnak, aki az entitás fogalmát bevezette (Tabár L., Fortschr Geb Rontgenstrahlen Nuklearmed Ergänzungsbd 1983; 116:1-222), és arról szakkönyvet jelentetett meg (Tabár L, Tot T, Dean PB: Breast Cancer. Early detection with mammography. Casting type calcifications: Sign of a subtype with deceptive features. Thieme Stuttgart – New York 2007.). Az immár közel 30 év utánkövetéssel közölt Two-County randomizált vizsgálatban és a méltán elismert svédországi nemzeti szűrőprogramban detektált 714, 1-14 mm-es invazív emlőrák közül 52 (6,7%) mutatott casting meszesedést csatlakozó tumor árnyékkal együtt vagy anélkül (Tabár L. et al. Cancer 2004, 101:1745-59). Egy korábbi közleményében a casting meszesedést adó esetek előfordulása 14% volt (Tabár L. et al. Lancet 2000; 355: 429-33). Végül, összehasonlította a Virginia állambeli Roanoke-ben 2002-2007 között észlelt 538, 1-14 mm méretű invazív emlőrák mammográfiás megjelenését saját anyagával. Ott a casting meszesedések aránya invazív emlőrák esetén 7% volt, szemben a Falunban 1977-1995 között diagnosztizált 771 eset 7%-ával, és az 1996-2006 közötti 923 eset 6%-ával (Tabár L. et al. memo - Magazine of European Medical Oncology 2011; 3:149-57.). Magunk 2012-ben megjelent többgócúsággal foglalkozó tanulmányunkban 1071 invazív emlőrák 8,1%-nál találtunk casting meszesedést (Kelemen G. et al. Neoplasma 2012;59:566-73), és 2004. január óta napjainkig folytatva az elemzést 1443 beteg közül 101-nél észleltünk casting meszesedést (7%). A két adatbázisban a casting meszesedés előfordulását az 1-14 mm nagyságú tumorokra szűkítve 7% (n=388), illetve 5,8%-ot (n=574) számítottunk.

Jóval kisebb esetszámú publikációk eltérően értékelik a casting mikrokalcifikáció előfordulását: Alexander a <15 mm invazív emlőrákok 15,4%-nál, (Alexander C. et al. Am J Roentgenol 2006; 187:29-37), James a <15 mm invazív emlőrákok 6%-nál (James L. et al. Clin Radiol 2003; 58:54-62), Malik közlése szerint 17,6%-ban (tumorméret nem ismert) (Malik H. et al. Breast 2000; 9:329-33) észlelhető. Mint látható, a publikációk száma limitált, és kizárólag a világ fejlett országaiból (Svédország, Egyesült Királyság, USA) származik, ahol valószínűleg hasonló etiológiai tényezők állnak a háttérben. Az esetek 1-14 mm tumor méretre szűkítése feltétlenül szelekciót eredményez. A casting mikrokalcifikációt adó emlőrákok általában magas proliferációs aktivitású duktális emlőrákok, az invazív tumorok gyakran tartalmaznak *in situ* komponenst, de a comedo nekrozist mutató területek elmeszesedése, melynek megjelenése a mammográfiás detektálás feltétele, nem azonnal, csak

később, bár relatíve gyorsan következnek be. Mivel ezek az esetek gyors progressziót mutatnak, nagyon fontos, hogy minden akár minuciózus meszesedést felismerjenek szűrés alkalmával. A castingos esetek detektálására a mammográfia különösen alkalmas, a módszer teljesítményét a digitális mammográfia lehetősége fokozza.

A következő kérdés, mi lehet az oka 565 operált, szűrés alkalmával felismert emlőrák esetében a 10-15 mm-nél nagyobb és grade 3 tumorok nagy arányának, illetve az intervallum rákok esetében mennyi idő telt el a megelőző mammográfiás szűrés és a tumor detektálása között, vajon ezek a tumorok agresszívebbek voltak-e. Közleményünk a mammográfiás emlőszűrés bevezetése utáni első évek anyagával foglalkozott. Ezért az esetek többségét az első szűrés („első kör”) eredményeként diagnosztizálták, érthető tehát, hogy csupán az esetek 34%-a tartozott az 1-10 mm csoportba. Adatbázisunkban 26 és 42%-ban fordult elő grade 3 emlőrák a szűréssel illetve a tünet alapján detektált esetekben, a különbség egyik magyarázata, hogy az emlőrákok a progresszió során dedifferenciálódnak. Ezek a számadatok Sihto anyagában 16 *versus* 30% (Sihto H. et al. Clin Cancer Res 2008; 14:4103-10), Cortesi anyagában 26 *versus* 40% (Cortesi L. et al. BMC Cancer 2006; 6:17), Lehtimaki anyagában 16,6 *versus* 30,1% (Lehtimaki T. Breast Cancer Res 2011; 13:R134). Bár a hisztológiai grade megállapításához kvantitatív paraméterek szolgálnak, mégis nagy szerepe van a vizsgáló szubjektív megítélésének. A módszer különösen bizonytalan a grade 2 tumorok jellemzése esetében, mely miatt ezeknél egyéb módszerekkel próbálkoznak (molekuláris genetikai jellemzés, pl. Oncotype DX, „genomikai grade”). Összhangban a nemzetközi tapasztalatokkal, szignifikánsan nagyobb arányban észleltünk grade 2 és 3 rákot a tünet alapján felismert, mint a szűréssel felismert tumorok esetében. Közleményünkben a grade 2-3 esetek aránya (amennyiben ezeket együttesen kezeljük) 70,8% *versus* 90% volt a szűréssel illetve tünet alapján felismert esetekben, míg ezek a számadatok a nagyszámú eseten alapuló publikációkban 65,5 *versus* 85,5% (Klemi P. et al. Breast. 2003; 12:308-13), 65 *versus* 78% (Sihto H. et al. Clin Cancer Res 2008; 14:4103-10), 65,7 *versus* 85,5% (Immonen-Raiha P. et al. Cancer 2005; 103:474-482), 61 *versus* 77,7% (Lehtimaki T. Breast Cancer Res 2011; 13:R134) volt. Anyagunkban az intervallum rák kategória feltétele a diagnózist megelőzően 2 éven belül negatív eredményt adó mammográfiás szűrővizsgálat volt, de annak pontos időpontját nem rögzítettük. Vizsgálatunk tapasztalata, és általánosan is elfogadott, hogy az intervallum rákok viselkedése nem különbözik a tünet alapján felismert rákokétól (Shen Y. et al. J Natl Cancer Inst 2005; 97:1195-203; Burrell H. et al. Radiol 1996; 199:811-7). Ugyan a megelőző szűréskor nem detektált intervallum rákok általában gyors progressziójú tumorok, a háttérben diagnosztikai nehézségek is állhatnak, például fokozott emlődenzitás esetén. Munkánkat illetően a Bíráló kérdezi, miért nem vizsgáltuk eseteinket az Ontillo és mtsai. által is leírt, ma már széles körben alkalmazott, az immunhisztokémiai jellemzőkre alapozott klasszifikáció szerint. Az emlőrákok ER/PR pozitív és HER2 pozitív, ER/PR és HER2 negatív, ER/PR negatív és HER2 pozitív, ER/PR és HER2 negatív alcsoportba osztásának nagy gyakorlati jelentősége van: prognosztikus és prediktív információt nyújt a klinikus számára, és ma már nélkülözhetetlen eszköz a rutin gyakorlatban. Törekvésünk a közlemény idején a szűréssel nyert első tapasztalatok a hagyományos prognosztikus és prediktív tényezők tükrében történő tanulmányozása volt, véleményünk szerint az alkalmazott módszer megfelelt a célul kitűzött leíró statisztikai elemzéshez. Emlőtumoros eseteink későbbi analízise során egyébként már alkalmaztuk a szóban forgó csoportosítást, és a nemzetközi eredményekkel összhangban kedvezőtlen túlélést tapasztaltunk a HER2 pozitív és „triple negatív” esetekben:

e két alcsoportban a relapszusmentes és a teljes túlélés az egyéb prognosztikus tényezőktől függetlenül rövidebb volt (Kelemen G. et al. Neoplasma 2012; 59:566-73).

Jeney Professzor Úr kérdez a CECOG keretében végzett dózis-sűrített FEC adjuváns kemoterápiás kezelések terápiás eredményéről. A túlélési adatokat akkor elemeztük, amikor a doktori disszertációban is szereplő három adjuváns dózis-denz kemoterápiás vizsgálatunk eredményét összesítettük a TOP2A status prediktív szerepének analízise céljából. A sűrített dózisú FEC kemoterápiával kezelt 51 betegünk közül 5-nél jelentkezett kiújulás median 60 hónap utánkövetés után, és 4 közülük meghalt; csupán egy beteg kapta kezelését a magasabb (90 mg/m<sup>2</sup>) antraciklin dózisú karon. Életminőség vizsgálat a két kezelési kar között különbséget nem jelzett (Kahan Z. et al. J Clin Oncol 2010; 28:(Suppl) p. e11058).

A következő kérdés a sűrített dózisú kemoterápia előnyeire, tervezésére, és a tumor molekuláris jellemzői szerinti alkalmazására vonatkozik. A sűrített-dózisú kezelés előnyét illetően ellentmondó eredmények születtek. Ami az effektivitást illeti, Citron doxorubicin, paclitaxel és cyclophosphamide-dal túlélésbeli előnyt igazolt a hagyományos dozírozáshoz képest, függetlenül, hogy kombinált vagy szekvenciális elrendezést alkalmazott (Citron M. et al. J Clin Oncol 2003;21:1431-9), ellenben Venturini FEC-kombinációval nem talált különbséget a túlélésben dózis denzitás szerint (Venturini M. et al. J Natl Cancer Inst 2005; 97:1724-33). Dózis-sűrített neoadjuváns kemoterápia (epirubicin, cyclophosphamide, paclitaxel adásával) a patológiai komplett remissziók számának szignifikáns emelkedését eredményezte (Untch M. et al. Ann Oncol 2011; 22:1999-2006). Duarte 4 adjuváns dózis-sűrített kemoterápiás vizsgálat 3418 esetének metaanalízisét végezte (Duarte L. et al. Breast 2012; 21:343-9). Eszerint a dózis-sűrített alkalmazási mód a betegségmentes túlélést javítja (HR=0.83; 95% CI 0.73-0.95; p=0.005), de a teljes túlélés csak trend-szerűen javul (HR=0.86; 95% CI 0.73-1.01; p=0.06). Saját tapasztalatunk is az, hogy a dózis-sűrített adagolás a szinte általánosan alkalmazott GCSF szupportáció miatt rendkívül biztonságos a neutropeniás komplikációk szempontjából, viszont kedvez az anemia és a mucositis jelentkezésének, de nem növeli a kardiális szövődmény vagy a myelodysplasia kockázatát. Saját eredményeink összhangban álltak Citron tapasztalatával: a szekvenciálisan adott dózis-denz ATC és ADC kemoterápiás kezelések kevésbé voltak toxikusak, mint a kombinált dózis-sűrített FEC kezelés (Citron M. et al. J Clin Oncol 2003; 21:1431-9). Az emlőrák kezelésében eddig dózis-sűrített módon a hagyományosan jól bevált szereket és kombinációkat tesztelték (antraciklinek, taxánok, cyclophosphamide, 5-fluorouracil). Valószínűleg a kombinációk tervezésénél ugyanazokat az elveket alkalmazzák, mint a konvencionális alkalmazás esetén, és tekintetbe veszik mellékhatás profil mellett azok időbeni jelentkezését illetve a szupportációs lehetőségeket. Professzor Úr felhívja a figyelmet Diallo-Danebrock (2007) és Fountzilias (2012) közleményeire utalva, hogy a dózis-sűrített illetve a nagy dózisú kemoterápia haszna immunhisztokémiai módszerrel végzett molekuláris tipizálás alapján emlőrák altípus szerint különböző lehet: a nagy dózisú kemoterápia előnyösebb a dózis-denz alkalmazási módnál HER2 pozitív és triple negatív emlőrákban, de nem javít a túlélésen a többi alcsoportban. Az egyénre szabott kemoterápia megválasztásához sok támpont áll rendelkezésre, de további adatok szükségesek. Leggyorsabb és -közvetlenebb eredményt a neoadjuváns kemoterápiás vizsgálatoktól várhatunk. Már is sokat nyújtott ebben a tekintetben a német emlő munkacsoport neoadjuváns kemoterápiás vizsgálatainak összesített analízise. Eszerint a hormon receptor pozitív csoportban a kemoterápia eredményessége fokozható a

kemoterápiás ciklusok számának, a kemoterápia időtartamának megnyújtásával, illetve gyenge válasz esetén citosztatikum váltással, míg ez a HER2 pozitív és triple negatív alcsoportokban nem jelent előnyt (von Minckwitz G. et al. Breast Cancer 2012; Aug 14. [Epub ahead of print]).

Opponens Úr következő kérdése, mi a felfogásom az emlőrák altípusainak meghatározó szerepéről a daganat progresszióban, és az onkofarmakonokkal szembeni válaszreakciójukban. A gyors növekedésű tumorok jó kemoszenzitivitása, a lassú növekedésű tumorok gyakori hormondependenciája régóta ismert, és kihasználható a klinikai gyakorlatban. A daganatok progressziós ütemét kezdetben a grade-del jellemeztük, a jellemzés később immunhisztokémiai paraméterekkel volt finomítható, ma akár molekuláris genetikai módszerekkel is. Meggyőződésem, hogy ez az információ tovább árnyalható a beteg vizsgálatával és anamnézisével, a többgócúság és szöveti terjedés vizsgálatával, a radiomorphológiai képpel vagy a detektálás módjával. Ami a terápiát illeti, a jelenlegi új érásban a daganat molekuláris jellemzése, a felelős molekuláris célpontok azonosítása alapján alkalmazott onkofarmakonok alkalmazásával a daganatok biológiai természete megváltoztatható. A kijelentés nem csak a „klasszikus molekuláris target terápiára” vonatkozik, hanem a kemoterápia optimalizálására is. Sajnos, mindezen óriási előrelépés ellenére, képességeink egyelőre elégtelenek akár a daganat kockázatának jellemzését (prognosztikus információ), akár onkofarmakon-érzékenységének meghatározását (prediktív információ) tekintjük, melynek egyik oka, hogy az eddig azonosított emlőrák altípusok maguk is heterogén csoportok.

A Bíráló kérdezi, van-e tapasztalatunk a triple negatív emlőrások fokozott antraciklin érzékenységevel kapcsolatban. Klinikánkon 2005. novemberétől 48 neoadjuváns kemoterápiás kezelést alkalmaztunk docetaxel-epirubicin±capecitabine kombinációval. Összesen 11 esetben észleltünk patológiai komplett regressziót (22,9%). A patológiai komplett regresszió megoszlása a következő volt emlőrák alcsoport szerint: triple negatív: 4/14, HER2 pozitív és ER/PR negatív: 3/5, ER/PR pozitív és HER2 pozitív: 1/5, ER/PR pozitív és HER2 negatív: 3/24.

Nagyon köszönöm Jeney Professzor Úr alapvető kérdéseit a GHRH antagonisták hatásmechanizmusát, és a GHRH antagonisták onkofarmakológiai fejlesztésének kilátásait illetően. A GHRH a VIP, a PACAP, a secretin, a glucagon, a GLP-1 és -2 és a GIP peptidek családjába tartozik, és specifikus receptorához kapcsolódva fejt ki a hatását. A GHRH receptora a hypophysisben a G fehérjéhez kötött GHRH receptor, aktivációja cAMP képződést és fehérje szintézist vált ki. A GHRH a keringésbe kerülve percek alatt lebomlik, endokrin hatása extrahypophysealisan elhanyagolható, viszont szintézisét a hypothalamuszon kívül egy sor szövetben igazolták, csakúgy, mint specifikus receptorának, illetve a variáns receptoroknak, elsősorban a „splice variant 1 receptor (SV1 receptor)” kifejeződését. Úgy tűnik, a GHRH egy a számos sejt és szöveti megújulást fokozó autokrin/parakrin növekedési tényezők közül. A GHRH és receptorainak (elsősorban az SV1 receptor dominál) kifejeződését ugyancsak kimutatták egy sor daganatos sejtvonalban, experimentális tumorban, és humán daganat mintákban is igazolták. A receptorok, illetve a peptid humán mintákban történt kimutatása alapján valószínűnek látszik, hogy a GHRH emlőrákban elsősorban a gyors proliferációjú triple negatív és apokrin (?) tumorokban játszik jelentős szerepet (Köster F. et

al. Breast Cancer Res Treat 2009; 116:273-9, illetve Bellyei Szabolcs és saját munkánk alapján).

Hogy a GHRH és analógjainak hatása a receptorhoz történő specifikus kötődés, majd receptor aktiváció vagy gátlás eredménye, számos rendszerben igazolták, például hGHRH transzgenikus egerekben, hGHRH receptor transzfektált hypophysis sejteken (Kovács M, J Endocrinol 2002; 175:425–434, és Curr Med Chem 2008; 15:314-21), GHRH receptor és SV1 receptor transzfektált HeLa cervix rák sejteken (Siejka A. et al. Cell Mol Life Sci 2010; 67:959-64. Egy sor daganat esetében kimutatták a GHRH nagy affinitással való kötődését membránkészítményeken (Havt A. et al. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102:17424-9). A GHRH GHRH/SV1 receptorhoz kötődése aktiválja a mitogen-aktivált protein kináz (MAPK) szignáltranszdukciós útvonalat, melyet GHRH antagonistá kivéd (Barabutis, J Mol Endocrinol 2010; 44:127-34). Protein kináz gátlók és a calcium csatorna antagonistá verapamil blokkolták GHRH stimuláló hatását, míg a protein kináz C aktiváló sejt növekedést stimuláló hatását gátolta GHRH antagonistá adagolása. T47D sejtek cAMP produkcióját GHRH fokozta, míg a GHRH antagonistá JV-1-38 kompetitív módon gátolta (Garcia-Fernandez M. et al. Breast Cancer Res Treat 2003; 77:15-26).

A GHRH antagonisták egy sor experimentális tumor modellben hatékony daganatgátlást idéznek elő. A hatásmechanizmus mindenekelőtt a GHRH-szignáltranszdukciós folyamatok gátlása, de emellett endokrin hatásként a keringő GH és következményes IGF-I szint csökkenés, illetve szöveti szinten a gyulladáshoz mediátorok és a reaktív oxigén és nitrogén species (ROS és NOS) koncentrációjának, és a tumor növekedését stimuláló IGF-ek produkciójának csökkenése is magyarázatul szolgálhat. A GHRH és GHRH receptorok normális szöveti expressziója alapján logikusnak tűnhet GHRH agonista hatású analógok alkalmazása egyes nem daganatos betegségek kezelésére. Sikeresnek bizonyult GHRH agonista adagolása experimentális szívinfarktus modellben az átmeneti ischaemia utáni szívizom regeneráció fokozására, a hatás feltételeként cardiomyocyták GHRH receptor expresszióját is igazolták. Hasonlóan, pancreas szigetek fejlődését és funkcióját stimulálta GHRH agonista alkalmazása *in vitro* és *in vivo*, melyet GHRH antagonistá kivédett (Barabutis N. et al. Cell Cycle 2010; 9:4110-6; Kiaris H. et al. Trends Endocrinol Metab 2011; 22:311-7).

GHRH antagonistát a klinikai gyakorlatban eddig csak endokrin kórképben és carcinoidban alkalmaztak (Dimaraki E. et al. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91:2185-90; Jaffe C. et al. J Clin Endocrinol Metab. 1997; 82:634-7). New Orleans-i tanulmányutam során 1998-ban mutattuk ki először biológiailag és immunológiailag aktív GHRH expresszióját tumorokban. Ezután 2000-ben számoltak be a GHRH receptor izolálásáról (Rékasi Z., et al. 2000; Proc Natl Acad Sci USA; 97:10561-6). Bár az eltelt időben intenzív kutatás folyt a területen, a klinikai relevancia megítéléséhez nagy szükség volna a GHRH és a GHRH/SV1 receptor humán tumor mintákban történő kimutatására, és ezek jelenlétének klinikai adatokkal való megfeleltetésére. A munkát nehezíti a klinikai gyakorlatban jól használható immunhisztokémiai módszer bizonytalansága, problémás standardizálása (Havt A. et al. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102:17424-9). Mint minden célzott terápia esetén, a GHRH esetében is fontos volna tisztázni a különböző szignáltranszdukciós mechanizmusok egymással való összefüggését, és a fenotípus változás hatását a GHRH antagonisták hatékonyságára. A GHRH antagonisták (és GHRH agonisták) humán alkalmazása aggályokat

is felvethet. Vajon a GHRH antagonisták krónikus adagolása mennyiben akadályozza az egészséges szövetek regenerációját? Állatkísérletek szerint bár az endokrin szervek durva eltérést nem mutatnak, szignifikáns szérumszintű GH és IGF-I csökkenés következik be. Saját kísérletünkben, a rendkívül potens JI-34 GHRH antagonistá tartós adagolása hatására a kontroll csoporthoz és a kevésbé aktív GHRH antagonistá MZ-5-156-kezelte csoporthoz képest jelentősen csökkent a szív és a máj tömege. Az agonisták klinikai alkalmazásával kapcsolatosan a potenciális tumor indukáló/stimuláló hatás merülhet fel aggályként. Ezért a GHRH agonisták adása valószínűleg csak egyszeri, vagy rövid ideig tartó kezelésként jöhet szóba. Végül szót kell ejteni arról a törekvéstről, hogy a GHRH receptorokat megcélözva, ellenanyaghoz kötött izotópot alkalmazzanak GHRH receptor pozitív tumorok képalkotó diagnosztikájára, vagy később nyílt izotóp terápiájára, mely módszer kifejlesztés alatt áll.

Válaszom végére érve ismét köszönetemet szeretném kifejezni Jeney Professzor Úrnak, hogy doktori disszertációm bírálatát elvállalta, és kérem, válaszat fogadja el.

Szeged, 2012. október 28.



Dr. Kahán Zsuzsanna