

## Válasz Prof. Kiss István opponensi véleményére

Köszönöm Kiss István Professzor Úrnak a doktori értekezésem gondos áttanulmányozását, az új eredmények kiemelését és támogatását a doktori cím odaítéléséhez. Az opponensi kérdésekre az alábbiakban válaszolok:

1. Tudja-e Pályázó (ill. megpróbálták-e vizsgálni), hogy a citológiai vizsgálat és a HPV-kimutatás prediktív értékének vizsgálatánál milyen okból veszítették el a kontaktust azokkal a betegekkel, akiket nem tudtak két vagy három évig követni? Volt-e esetleg bármi információ ezen betegek sorsáról? Nem befolyásolhatta-e a „lost to follow-up” jelensége a negatív prediktív érték meghatározását?

A prediktív érték vizsgálatánál a vizsgálati csoportnak egy olyan szegmensét választottuk ki, amely a HPV asszisztált citológia típusú primer szűrésben negatív, azaz a következő reguláris szűrésig egyéb teendőt nem igénylő minősítést kapott volna. A hazai szűrési protokollból adódóan azonban ez a szegmens is ki lett emelve a szűrésen, a gondozás HPV vizsgálatot és sűrűbb nőgyógyászati kontrollt foglalt magába, amelyek számos beteg számára beavatkozás nélkül is megnyugtató eredménnyel zárultak és vissza lehetett őket irányítani a reguláris primer szűrésbe, személyes választás szerint akár a Női Klinikán, akár az egyéb nőgyógyászati szakrendeléseken.

A negatív prediktív érték megbízhatóságát az befolyásolná, ha a követésből kimaradt betegek között előfordult volna CIN2 vagy súlyosabb lézió. A követhetőség hiánya miatt becsülni tudjuk ennek valószínűségét, pontosabban valószínűtlenségét. A követésből kiesett esetek adatai a következő helyzetet tárták fel: Az elemzésben nem vettük figyelembe azokat az eseteket, akiknél a követési idő lejárta előtt műtéti eltávolítás történt, de a szövettan nem igazolta az elváltozást (első 2 év 7 eset, 3. év 2 eset összesen 5,4%). A végig konzervatív módon gondozott csoportból a követés első évében 4 beteg (2,4%) tűnt el, akiknek egyébként utolsó ismert vizsgálatuk megnyugtató eredménnyel zárult. Szintén a végig konzervatív módon gondozott csoportból a második ill. harmadik év végére további 36 (21%) ill 25 (15%) beteg követhetősége szűnt meg úgy, hogy a sorozatosan megnyugtató vizsgálati eredmények után joggal térhettek vissza a reguláris primer szűrésbe. A fentiek alapján az utóbbi két nagyobb elvesztett alcsoportban nem várható, hogy nagyobb lenne az onkológiai kockázat, mint a rendszeresen átszűrt átlagos populációban.

A prediktív érték meghatározásának is van statisztikai bizonytalansága ill. megbízhatósági tartománya. Még ha a 2. és a 3. évi lemorzsolódással 1-1 CIN2 vagy súlyosabb léziót veszítettünk volna (amit a betegcsoport alapján egyébként nem tartok valószínűnek), akkor is

a megbízhatósági tartomány alsó szélé 0,5 ill 0,3 százalékponttal módosulna a 2 ill. 3 éves követés során, azaz a követésből kimaradt betegek nem torzíthatták lényegesen a negatív prediktív értékre vonatkozó számításunkat

2. Milyen molekuláris mechanizmusok magyarázzák a multiplex és simplex HR-HPV fertőzések eltérő onkológiai kockázatát? Mivel magyarázható, hogy Pályázó eredményei szerint a multiplex HR-HPV fertőzések onkológiai kockázata (CIN-2+kialakulása) alacsonyabb (7. táblázat), mint a simplex fertőzéseké, miközben vannak olyan irodalmi adatok, amik ennek az ellenkezőjét mutatják?

A saját adataink alapján nem találtunk szignifikáns eltérést a szimplex és a multiplex HPV fertőzések kockázata között. A szakterületen végzett tanulmányok egy része szintén nem talált szignifikáns különbséget, míg másik része a multiplex fertőzések után a premalignus elváltozások kialakulásának fokozott kockázatát észlelte. A különbség jól magyarázható a beválogatási kritériumok alapján. A mi tanulmányunkban és a hozzánk hasonló következtetésre jutó tanulmányokban olyan nőknél vizsgálták a kockázatot, akinél valamilyen eltérés már jelen volt a beválogatáskor. A tanulmányok másik csoportjában egészséges, beválogatáskor még elváltozástól mentes populációt követtek akár rendszeres HPV vizsgálatokkal és azt tapasztalták, hogy a multiplex fertőzések nagyobb, de nem többszörös eséllyel fognak később manifeszt hámelváltozást okozni az szimplex HPV fertőzéshez képest. Ez alapján a többszörös (vagy még inkább a szekvenciálisan egymást követő fertőzések) kockázati hatása a cervikális karcinogenezis legkorábbi szakaszára tehető.

3. Milyen következtetések vonhatók le Pályázó HPV-tipizálási eredményeiből a HPV-védőoltások továbbfejlesztésére vonatkozóan?

Saját adataink alapján a bivalens és a quadrivalens vakcina által lefedett HPV típusok okozták a CIN2 vagy súlyosabb elváltozások 57,7%-át. Az újonnan engedélyezett nonavalens vakcina összesen hét onkogén HPV típust fed le, amelyek tanulmányunkban a CIN2 vagy súlyosabb elváltozások 72,4%-át okozták. A hazai adatainkhoz nagyon hasonló adatok születtek 10 évvel később egy USA-beli tanulmányban (Hariri et al 2014), ahol a 56,4% ill. 79,2% lefedettséget észleltek a kaukázusi populációban.

Meg kell említeni, hogy különösen a bivalens, de még a kvadrivalens vakcina is részleges keresztvédelmet biztosít a vakcinából kimaradó egyes onkogén típusok okozta CIN léziók ellen. Kérdés, hogy a HPV vakcinákba a további komponensek beépítése hogyan befolyásolja az egyes komponensek hatékonyságát vagy további típusokkal szembeni keresztvédelmet. Az sem biztos, hogy a jelenlegi, kizárólag L1 HPV antigént tartalmazó vakcina komponensek

számának növelése a legjobb irány. Egyes szakemberek szerint az L1 és L2 HPV antigéneket együtt tartalmazó vírusszerű partikulákkal vakcinálva nemcsak a vakcinatípusok, hanem további onkogén típusok ellen is hatékony védelmet lehetne kiváltani.

4. Az IL-10 polimorfizmusra vonatkozó vizsgálatoknál nem gondolja-e Pályázó, hogy a viszonylag alacsony esetszámok befolyásolhatták-e az eredményeket? Történt-e előzetes kalkuláció a megkívánt esetszámok kiszámítására? Mi a véleménye arról, hogy a HPV negatív léziók esetén a két alcsoport nagysága (NOS – 45, P3 – 83) lényegesen eltért egymástól, és nagyobb NOS-csoport esetén itt is szignifikáns lehetett volna az összefüggés a G-allél gyakoriságával? (a kérdés természetesen a lényegi megállapítást – a HPV-negatív és HPV-pozitív összehasonlítást nem érinti)

Köszönöm a Professzor Úr megállapítását, hogy a HPV negatív esetek stratifikálásából eredő elemszám csökkenés nem érinti a lényegi megállapítást, azaz a HPV-negatívak és HPV pozitívak közötti összehasonlítást. Mindkét csoporton belül a citológiai eredmény szerinti alábontással a hazai protokoll és a vizsgálataink idején a világ más országaiban honos méhnyakszűrési eljárások közötti különbségeket hidaltuk át.

A vizsgálataink idején szokásos klinikusi gyakorlat szerint, ha a kolposzkópos kép alapján felmerült a hám diszpláziás vagy neopláziás elváltozásának akár csekély gyanúja, akkor a szokványos citológiai mintavétel mellett HPV vizsgálatra is küldtek exfoliált hámsejteket. Ezen esetek nagyobb részében a citológiai vizsgálat valóban vagy onkológiai jelentőségű, vagy onkológiai szempontból bizonytalanak minősülő elváltozást tárt fel. Az így képződött vizsgálati csoport közvetlenül megfeleltethető volt a más országokban szokásos szűrési protokollok során kiemelt és tovább vizsgálandó betegcsoportnak. Tanulmányunk ezen a csoportra szűkítve is ki tudta mutatni a polimorfizmus hatását.

A tanulmányunkban fenti csoport mellett megmaradó NOS (*no oncogenic significance in cytology*) csoport a hazai méhnyakszűrési protokoll sajátossága. Ugyan a NOS csoport mérete mintegy fele a citológiai atípiacsoporténak, beteggondozás során a kolposzkópos atípiamiatt itt is indokolt volt a sűrűbb nyomon követés. A NOS és a citológiai atípiacsoportban a vizsgált polimorfizmus genotípusos eloszlása is nagyon hasonló. Ezek a közös vonások inkább arra ösztönöznek, hogy a NOS csoportra vonatkozó következtetéseket ne elkülönítve, hanem a másikkal összevonva vizsgáljuk, amikor a hazai gyakorlatra kívánjuk átültetni a tanulmány eredményeit.

Az egyes vizsgálati csoportok méretét, akkor lehetett volna jól előzetesen kalkulálni, ha előre meg tudtuk volna becsülni az eltérő genotípusokból eredő kockázat mértékét, de erre a vizsgálat előtt nem volt adatunk. Az adatokat utólag áttekintve az AA és nonAA genotípusok

összehasonlításához az észlelt kockázati érték mellett a citológiai atípiá csoport mérete elegendő statisztikai erőt biztosított csak úgy, mint az összevont citológiai és/vagy kolposzkópos atípiá csoporté.

5. Történtek-e vizsgálatok, vagy vannak-e irodalmi adatok arra nézve, hogy a periapicalis léziókból vett mintákban milyen sejtek milyen arányban voltak jelen? Vajon ezek az arányok a különböző minták esetében egyformák voltak-e? Ha nem, akkor ez befolyásolhatta-e az eredményeket?

A periapikális léziókban az egyes sejtípusok mennyiségi viszonyai várhatóan hatással vannak az egyes inflammatorikus mechanizmusok aktivitására. Az egyes sejtípusok relatív előfordulására szakirodalmi adatok állnak rendelkezésre: A periapikális granulomák többségében a T-limfociták, a B-limfociták és a monocita/makrofág típusú sejtek előfordulási aránya 10%-25%-os tartományba esik. Az utóbbi két sejtípus a periapikális granulomák kisebb csoportjában 10% alatti ill. 25%-50% tartományba eső értékeket is produkálhat külön-külön. Az Epstein-Barr (EBV) eredményeinkre nyilván hatással van, hogy az EBV elsősorban a B-limfocitákat fertőzi. A periapikális granulomát felépítő sejtípusok abszolút mennyiségét jóval nehezebb megbecsülni. A saját és mások tapasztalata szerint az EBV szerepe és a gyulladásos lézió mérete között pozitív összefüggés mutatható ki, ami alapján feltételezhető, hogy a sejtösszetétel relatív viszonyai mellett az EBV gazdasejtjeként szolgáló sejtípusok abszolút mennyisége sem hanyagolható el.

Debrecen, 2017. március 29.

Dr. Kónya József