

Bírálat Dr. Igaz Péter „Endokrin daganatok és immun-endokrin kölcsönhatások molekuláris, bioinformatikai és klinikai vizsgálata” című MTA doktori értekezéséről

Igaz Péter MTA doktori értekezését 2011-ben nyújtotta be. Az értekezés a jelölt összesen 21 közleményére épül, melyből 16 közlemény nemzetközi folyóiratban, 5 közlemény magyar folyóiratokban jelent. Az angol nyelvű közlemények közül 8-ban első szerző, 7-ben utolsó szerző, míg a magyar nyelven megjelent közlemények közül 1-ben első a többiben utolsó szerző. Az értekezés témájában 8 könyvfejezetet publikált, közülük hármat angol nyelven. A téziseket megalapozó idegen nyelven megjelent közleményeinek impaktfaktora: 40,04. Kiemelkedő tudományos aktivitását jelzi, hogy az értekezésen kívül további 60 közleményben szerző, domináns részükben első szerző, a tézisek beadását követően, 2012-ben 3 nemzetközi folyóiratban jelent meg közleménye.

A tézisek teljes terjedelme 215 oldal, melynek felépítése az alábbi:

- 4 oldal könnyen követhető, a dolgozat ismételt elolvasását jelentősen segítő *tartalomjegyzék*,
- logikusan strukturált *rövidítés jegyzék*, melyet a
- gyakran használt génszimbólumok és fehérjénevek rövidítéseinek kifejtése követ,
- a „Bevezetés” 5 oldalban foglalja össze a dolgozat hangsúlyos alapját képező mellékvese-daganatok mikroRNS expressziós mintázatának vizsgálati eredményeit, valamint munkájának másik fő irányát meghatározó immun-endokrin rendszerek kölcsönhatását kutató munkáit. A bevezetésben röviden, de igen átfogóan kitér a teljes genom funkcionális karakterizálását lehetővé tevő módszerek jelentőségére, az *in silico* vizsgálatok segítségével megvalósítható genetikai variánsok, szekvenciapolimorfizmusok azonosítási lehetőségeire is.
- Az „Irodalmi áttekintés” , melynek terjedelme 37 oldal kellő részletességgel tárja fel kutatások irodalmi háttérét, az eddigi, teljesen naprakész információkat a betegségek háttérében álló molekuláris eltéréseket, a funkcionális genomika/bioinformatika eszköztárával közölt vizsgálatai eredményeket. A mikroRNS-ek szerepének, kifejeződésének, képződésük folyamatának, hatásmódjának, élettani és kórélettani jelentőségének, valamint daganatokban játszott szerepének leírása, egyértelmű bizonyítja a jelölt ezen a területen történő kutatási elkötelezettségét és szakértelmét. Az irodalmi áttekintésben szereplő ábrák, sematikus ábrázolások nagyon szemléletesek, jelentősen hozzájárulnak a különböző molekuláris mechanizmusok könnyebb áttekintéséhez. A módszertani kitekintésben a jelölt által alkalmazott, elsősorban genomikai módszerek irodalmi áttekintése mellett, olvashatunk a szabadon elérhető microarray adatbázisokról, az adatok statisztikai elemzéséről és azokról a speciális bioinformatikai módszerekről, melyekkel a microarray adatok további elemzése valósítható meg. Ezek segítségével lehetőség van olyan molekuláris hálózatok azonosítására, melyeknek egy adott betegségre vonatkozóan patogenetikai jelentősége lehet.
- A „Célkitűzések” megfogalmazása 11 pontban történik.

- A „*Betegek, Anyagok és Módszerek*” a tézisek komplexitásának megfelelő részletességgel mutatja be, szemléletesen csoportosítva a beteg és szövetminták legfontosabb jellemzőit, az alkalmazott molekuláris biológiai és molekuláris genetikai vizsgálatok sokszínűségét. A bioinformatikai vizsgálatok bonyolultságának megértését ábrákkal segíti a jelölt. Kiemelem a jelölt által kidolgozott munkamenetnek a sematikus ábrázolását (7. és 8. ábrák), melyeken a mellékvesekéreg-daganatok molekuláris (mikroRNS, mRNS) és bioinformatikai vizsgálatát, valamint a phaeochromocytomák mikroRNS expressziós mintázatának és ennek patogenetikai jelentőségének elemzését mutatja be a jelölt rendkívül logikusan és könnyen érthetően. Hasonlóan könnyen érthető a génexpressziós és citogenetikai vizsgálatok meta-analízise során alkalmazott folyamatábra.
- Az „*Eredmények és Megbeszélés*” fejezetben gazdag, igényesen szerkesztett ábraanyaggal illusztrálva az eredményeinek bemutatásával párhuzamosan ismerteti az irodalmi hátteret, hasonlítja eredményeit a nemzetközi irodalomban közölt adatokhoz.
- Az „*Összefoglalás*” fejezetben a vizsgálatoknak megfelelő tagolásban foglalja össze eredményeit és új megállapításait. Továbbá kiemeli eredményeinek potenciális klinikai hasznosítási lehetőségeit is mind a diagnosztikára, mind a betegségek kezelésére vonatkozóan.
- Az „*Értekezést megalapozó közlemények listája*” jól áttekinthető formában sorolja fel a közleményeket, melyeket a további közlemények és scientometriai mutatók részletezése követ.
- Az értekezésben összesen 368 irodalmi hivatkozásra utal a jelölt.
- A dolgozatot a „*Köszönetnyilvánítás*” zárja.

Az értekezés formailag teljes egészében megfelel az MTA doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeknek. Az értekezés formai részével kapcsolatban csak néhány megjegyzésem van, melyeket a későbbiekben ismertetek.

Úgy gondolom, már az előzőekből is kitűnik, hogy a dolgozat témaválasztása aktuális, rendkívül fontos kutatási területet céloz meg. Az alkalmazott módszerek a genomikai megközelítések legmodernebb módszerei, kiemelkedően nemzetközi színvonalúak. A microarray adatok validálása következetes, így a levont következtetések maximálisan helytállóak. Külön értéke a dolgozatnak, hogy az eredmények hazai laboratóriumokban, hazai kollaboráció keretében születtek.

A dolgozatban ismertetett eredmények közül tudományos szempontból új eredményeknek az alábbiakat emelem ki:

1. A jelölt szignifikáns mikroRNS expressziós eltéréseket mutatott ki a mellékvesekéreg jóindulatú hormonálisan inaktív és kortizontermelő, valamint a mellékvesekéreg-karcinóma expressziós mintázatai között.

2. Olyan mikroRNS biomarkereket azonosított, melyek alkalmasak a jó és rossz-indulatú mellékvesekéreg daganatok elkülönítésére.
3. Szignifikáns mikroRNS expressziós eltéréseket talált az örökletes benignus, sporadikus benignus és a recidivát képző pheochromocytomák között. Kimutatta a Notch-jelátviteli útvonal jelentőségét pheochromocytomák recidívájában.
4. Új szövet specifikus mikroRNS predikciós módszert dolgozott ki, melynek segítségével a mellékvesekéreg-karcinómában fontos patogenetikai eltérést azonosítottak. Megállapította, hogy a C-MYC protoonkogén csökkent kifejeződése a mellékvesekéreg-karcinoma központi eleme.
5. Bioinformatikai meta-analízissel három fő patogenetikai utat azonosított
 - a sejtciklus G1/S és G2/M ellenőrzőpontjainak károsodását, mikroRNS-ek szerepét
 - a retinsav jelátviteli eltéréseit
 - immun-komplement rendszer szerepét.
6. Szignifikáns, a rosszindulatú mellékvesekéreg-daganatokra jellemző különbséget talált a hisztamin receptorok közül a H3 receptor kifejeződésére, ami a rosszindulatúságra utaló markerként történő alkalmazásának lehetőségét is felveti.
7. Immun-endokrin kölcsönhatások vizsgálatai során először bizonyította, hogy az oncostatin M-nek szerepe van hipotalamikus GnRH-neuronok működésének szabályozásában (*Endocrinology. 2006;147(2):1037-43. Epub 2005 Nov 10.*).
8. *In silico* genomikai vizsgálatai során
 - új variánst azonosított a hisztamin bioszintetikus enzim receptorai és lebomlásában szerepet játszó fehérjék génjeiben, valamint a szteroidhormon bioszintézisében és metabolizmusában szereplő gének vizsgálata során (*Am J Pharmacogenomics. 2002;2(1):67-72.; J Steroid Biochem Mol Biol. 2002;82(4-5):359-67.*).
 - új variánsokat írt le a glükokortikoid receptor génjeiben, melyek a fehérje hormonkötő régióját befolyásolják.
 - a multiplex endokrin neoplasia 1 és MEN 2 szindrómáért felelős génekben új variánsokat írt le, melyeknek nemcsak elméleti, de klinikai relevanciája is lehet (*J Endocrinol Invest. 2002 Jul-Aug;25(7):609-13.*).
9. Magyarországon elsők között végzett genetikai vizsgálatot a MEN2A szindróma igazolására. Vizsgálataik során két új klinikai fenotípust azonosítottak.

A fenti tudományos eredmények értékét jelzi, hogy a tézisekben összefoglalt közleményekre eddig közel 300 független idézetet regisztráltak (MTMT adatbázis adatai alapján).

A bírálatom kritikai kifejtése előtt szeretném megjegyezni, hogy az értekezést összességében pozitívan értékelem, a benne összefoglalt munka bizonyítja, hogy jelölt képes ezen a kutatási területen kutatócsoport munkáját irányítani a jövőben.

A téziseket megalapozó közlemények a jelölt elmúlt 11 évben megjelent közleményei közül azok a közlemények, melyek koherens célkitűzések alapján, számos új eredményt szolgáltatottak, modern megközelítéseket alkalmaztak és nemzetközileg jelentős megállapításokat eredményeztek.

Mint korábban említettem, jelentős formai kifogásom a dolgozattal kapcsolatban nincs, az ábrák szemléletesen szerkesztettek, elírásokat csak ritkán találtam. Formai jellegű megjegyzéseim az alábbiak:

- A bírálatot jelentősen megkönnyítette volna, ha mellékletként a jelölt csatolja a téziseket megalapozó közleményeket.
- A 18. ábra színei a nyomtatás során nem különülnek el jól: a kópiaszám növekedést és génexpresszió növekedést jelző színek az ábrán azonosnak látszanak.
- Hiányoltam, hogy az eredményeket és a megbeszéléseket tartalmazó fejezetben nem szerepelnek a szerző saját közleményei, mint idézett irodalmi hivatkozások.

A bírálat során az alábbi kérdések fogalmazódtak meg:

1. A jelölt téziseiben azt írja, hogy jó- és rosszindulatú mellékvesekéreg daganatok elkülönítésére, a malignitás jelzésére a *hsa-miR-511* és *hsa-miR-503* mikroRNS-ek expressziós különbsége bizonyult a legjobbnak, de ez a megállapítás további megerősítést igényel nagyobb elemszámú mintacsoportban. *Kérdésem, hogy az eltelt idő alatt történtek-e erre vonatkozóan további vizsgálatok? Megerősítést nyert-e a fenti megállapítás a jelölt vagy más munkacsoport által? Érdekelne, hogy milyen eredmények születtek eddig a microRNS-ek szerepére vonatkozóan a daganat őssejtekre?*

2. A mikroRNS-ek cél mRNS-einek azonosítására kidolgozott új módszerrel kimutatták, hogy a mellékvesekéregben a sejtciklus G2/M ellenőrzőpontját a mikroRNS-ek is szabályozzák, azonban ezek a mikroRNS-ek nem azonosak más szövetekben validált mikroRNS-ekkel, ami szövetspecifikus hatásra utal. *Tekintettel arra, hogy ezek bioinformatikai predikciók, történtek-e ennek igazolására kísérleti vizsgálatok? Milyen kísérleti eredmények vannak más daganatokra vonatkozóan a szövetspecifitás igazolására?*

3. A mellékvesekéreg funkcionális genomikai meta-analízise során saját adataikat vetették össze az irodalomban fellelhető, elég heterogén adathalmazokkal. Az adatok összehasonlítása nem volt egyszerű feladat, nemcsak azért, mert a jelölt és munkatársai voltak az elsők akik ugyanazon mintákon kromoszómális eltéréseit és génexpressziós változásait vizsgálták ebben a daganat típusban, így nem állt nagyobb számú parallel minta rendelkezésre az analízishez, hanem azért is mert a mások által alkalmazott platformok eltérőek voltak. *Kérdésem ezzel kapcsolatban, hogy mennyire befolyásolja az analízist az, hogy a CGH vizsgálatok során alkalmazott targetek a rendkívül kondenzált kromoszómáktól (klasszikus CGH), 750-1,4 Mb méretű BAC array-eken túl a nagyfelbontású array platformokig terjedtek? Érdekelne, hogy hogyan integrálták a meta-analízisbe az eltérő platformok adatait? A CGH adatok validálására milyen módszert alkalmaztak saját vizsgálataik során?*

Milyen mértékű a különböző kromoszómális eltérések heterogenitása egy daganaton belül? A 11 saját minta analízise során milyen kontroll mintákat használtak a génexpresszió változások elemzéséhez? Vannak-e mellékvesekéreg daganatokra specifikus olyan gén eltérések (hasonlóan más daganatokhoz), melyek a terápia kiválasztásában meghatározóak?

4. A jelölt a sejtciklus útvonalainak vizsgálata során a C-MYC csökkent kifejeződését találta mellékvesekéreg daganatokban, melynek háttérében feltételezései szerint a 8q24 kromoszómarégió elvesztése áll. *Kérdésem, hogy a saját és mások CGH adatai alapján milyen gyakorisággal fordul elő a C-MYC onkogén deléciója a vizsgált daganatokban? Vannak-e a C-MYC delécióra vonatkozóan FISH vizsgálataik? Milyen más daganat típusban fordul elő a gén down-regulációja és ezekben az esetekben milyen mechanizmus áll a csökkent génkifejeződés háttérében?*

Összefoglalva kérdéseim és kritikai megjegyzésem semmit sem vonnak le az értékezés értékeiből. Dr. Igaz Péter eredményei nemzetközileg kiemelkedőek, értékes módszereket fejlesztett ki, melyeknek klinikai és gyakorlati relevanciája is várható a közeljövőben.

A doktori értekezés tudományos eredményeit az MTA doktori cím megszerzéséhez elegendőnek tartom, javaslom a nyilvános vita kitűzését.

Debrecen, 2012. augusztus 07.

Dr. Balázs Margit
egyetemi tanár
az MTA doktora