

OPPONENSI VÉLEMÉNY

dr. Pajor László

„Klonális heterogenitás és evolúció haematológiai daganatokban” című, 2015-ben készített MTA doktori értekezéséről

Dr. Pajor László a Pécsi Tudományegyetem ÁOK Pathológiai Intézet egyik kiemelkedő szakembere, több éven keresztül volt az intézet igazgatója. Az intézet a hazai patológia, azon belül a hemato-patológia egyik kiemelkedő műhelye olyan elődökkel, mint Romhányi György és Kelényi Gábor professzorok. Kelényi professzor nevéhez fűződik az országos lymphoma centrum megalapítása és működtetése. Ennek a hagyománynak volt folytatója Pajor László, aki 1993-ban vette át az intézet igazgatását. Pajor László kutatói munkássága szép példája a kiemelkedő színvonalú patológiai diagnosztikai tevékenységhez szervesen kapcsolódó kutatásnak, amelyek a rutin diagnosztikában és a betegellátásban is hasznosítható információk megismeréséhez vezetnek. A pályázó az 1992-ben megszerzett Ph.D. (kandidátusi) fokozat óta eltelt 23 év eredményeit bemutató doktori értekezésében a hemato-patológia gyakorlatilag teljes módszertani tárházának felvonultatásával mutat be szerteágazó kutatásokat kiemelt hangsúllyal a citogenetikai és a molekuláris technikák kombinálására.

A műfaját tekintve teljes terjedelmű értekezés összesen 155 oldal szöveget és 63 nem lineárisan számozott ábrát, 18 táblázatot (az egyik 2,5 oldal terjedelmű), és 33 oldal irodalomjegyzéket tartalmaz. A szöveges részen belül az utolsó, 6 oldalas, „Főbb következtetések – új eredmények” fejezet szó szerint egyezik a téziszűzet „Főbb következtetések – új eredmények – hasznosítás lehetőségei” című fejezetével. Az alfejezetenként tagolt, szokásosnál kisebb karakterrel szedett irodalomjegyzék összesen 605 hivatkozást tartalmaz, amelyek között vegyesen vannak jelen az irodalmi és a saját hivatkozások. A szokásokkal ellentétben a dolgozat nem tartalmazza az MTA doktori pályázat alapját képező saját közlemények elkülönített felsorolását, illetve azok alapvető scientometriai adatait. Egy ilyen listát tartalmaz viszont a megkapott téziszűzet, amely szerint a pályázat alapját 27 tudományos közlemény képezi, amelyből 5 magyar, 22 pedig angol nyelvű nemzetközi folyóiratban került közlésre. Nem szerencsés, hogy az 5 magyar közlemény közül kettőnek (10. és 17.) gyakorlatilag azonos a címe („Krónikus myeloid leukaemia komplex molekuláris monitorizálása” és „A krónikus myeloid leukaemia citogenetikai és molekuláris monitorozása”) és 6 év különbséggel jelentek meg az Orvosi Hetilapban. A 22 angol nyelvű közlemény közül a jelölt 18-ban első/utolsó szerző. A 22 angol nyelvű közlemény közül 3 a Pathology Oncology Research folyóiratban jelent meg. A magyarországi kutatások magas arányára utal, hogy a 22 angol nyelvű közlemény közül 20-ban a szerző neve alapján magyar kutató az első/utolsó társszerző. A 22 angol nyelvű közleményre a Ph.D. fokozat megszerzése óta 238 független hivatkozás történt, ami cikkenként átlagosan mintegy 11 hivatkozást jelent.

Az értekezésben bemutatott munka főbb tudományos eredményei a következők:

1. 150, pre-B gyermekkori akut lymphoblasztos leukémiában (ALL) szenvedő beteg vizsgálata alapján megállapításra kerültek a leggyakrabban érintett kromoszómák. Új mikroszkópos relokalizációs technika alkalmazásával jelentős szubklonális heterogenitás, és esetenként bimodális gyakorisági eloszlás mutatkozott. Korrelált adatbázissal vizsgálva megállapítható volt, hogy a kromoszóma anyagtöbblet (feltehetően „gain”) kialakulása szekvenciálisan történik.
2. 130, pre-B gyermekkori ALL-ben szenvedő beteg vizsgálata során a szerző megállapította, hogy a hazai populációban az ETV6/RUNX1 transzlokáció gyakorisága 20%. Ezekre az esetekre új minimális reziduális betegség követési módszert dolgoztak ki, amely

érzékenyebb volt a korábbi RNS, illetve DNS alapú PCR technikáknál. Elsőként mutattak ki in utero keletkező leukémia prekursor sejteket.

3. 17, Philadelphia kromoszóma pozitív (Ph+) ALL eset vizsgálata során a szerző megállapította, hogy a krónikus myeloid leukémia blasztos krízis és a de novo Ph+ ALL a BCR-ABL1 transzlokáció töréspontja alapján nem különíthető el. Szintén nem volt lehetséges az elkülönítés komparatív genomikus hibridizációval, amely megközelítéssel mindkét kórformában kromoszóma anyaghiány („loss” azaz deléción) mutatkozott a CDKN2A, az IKZNF1 és a 14q32 lokuszoknak megfelelően.
4. Krónikus myeloid leukémiában (CML) szenvedő betegek vizsgálata során a jelölt felhívja a figyelmet a Ph+ mellett a fúziós mRNS-expresszió hiányának fontosságára, ami felértékelheti a DNS-alapú kimutatási módszereket.
5. Ph+ CML és hajjas sejt leukémia együttes előfordulását írta le egy betegnél.
6. Myeloproliferatív neoplasiákban emelkedett gyakoriságban mutatott ki klonális B lymphocyt populációt.
7. A CML sejtek kezeletlen állapotban nagyfokú heterogenitást mutatnak a BCR-ABL1 expresszió vonatkozásában
8. 365, perifériás T sejt lymphomában (PTCL) szenvedő beteg vizsgálata során az Epstein-Barr vírust tartalmazó B lymphocyták expansiója és Hodgkin-Sternberg-Reed szerű aktivált sejtekké alakulása figyelhető meg. Ezek a sejtek részletes sejtfelszíni marker, illetve DNS vizsgálatokkal sem voltak elkülöníthetők a Hodgkin lymphomára jellemző Sternberg-Reed sejtektől, amely összességében a Hodgkin lymphoma korai klonális evolúciójára utalhat PTCL-ben.
9. A szerző által kidolgozott új analitikai citometriás módszerrel lehetővé vált a t(9;22)(q34;q11.2) transzlokáció sejt vonal specifikus interfázis citogenetikai (iFISH) elemzése, amelynek automatizálási lehetőségeit is vizsgálta.

Tartalmi/szerkesztési észrevételek:

- a. Mivel a jelölt munkáját színvonalas nemzetközi folyóiratokban közölte, ahol azok már átmentek a „peer-review” eljárás esetenként igen szigorú szűrőjén, a bíráló felmentve érzi magát a tudományos eredmények tételes szakmai bírálata alól. Ugyanakkor jelentősen javította volna az értekezés áttekinthetőségét, ha a szöveg folyamatos és elkülönített hivatkozásokat tartalmaz a dolgozat alapjául szolgáló saját közleményekre. Sajnálatos módon ez a lista magában a dolgozatban nincs is benne, csak a téziszűzetbe. Nem volt szerencsés az a szerkesztési megoldás, hogy a dolgozat alapjául szolgáló saját közleményeket a szerző a 605 tételt tartalmazó „Irodalomjegyzék” fejezetbe „keverte be”, gyakorlatilag lehetetlenné téve az olvasónak az egyes új eredmények saját publikációkhoz rendelését. A bíráló és az olvasó igazi kényeztetése viszont akkor valósult volna meg, ha a szerző saját nemzetközi közleményeinek másolatait függeléként teljes terjedelemben a dolgozat részévé teszi. Véleményem szerint célszerű lenne ezt a szerkesztési körülményt az MTA doktori pályázatok követelményrendszere részévé tenni.
- b. Sajátos vonzatai vannak annak, hogy a pályázó a dolgozatban egy 23 éves időszak munkáját kísérli meg összefoglalni. A disszertáció alapját képező 27 közlemény között a legkorábbi 1991-ben került közlésre, 2010 után pedig mindössze 4 közlemény jelent meg. Az igen gyorsan fejlődő és változó hemato-patológiában a 10-15 éve közöltek sok esetben jelentősen módosultak az utóbbi évek felfedezései ismeretében. Ezt a problémát kezelendő fontos lenne a saját eredmények bemutatása mellett azokat a megfelelő, legújabb, nemzetközi szakirodalmi kontextusba helyezni. Ez a törekvés nyomon követhető a hivatkozási listában szereplő

közlemények megjelenési éveiből. A jelen dolgozat szerkesztése ebből a szempontból nem szerencsés. Az általam áttekintett 291 (5.2.1-től az 5.3.2. fejezetig) hivatkozásból mindösszesen 15 (5%) került közlésre 2010 után, 8 pedig 1980 előtt. Az eredmények korszerű megbeszéléséhez ennél aktuálisabb hivatkozási listára lett volna szükség.

- c. A hemato-patológiai szakirodalom elképesztő gazdagságának ismeretében nem tartom szerencsésnek olyan forrásokat használni, mint a 174. old. 31. referenciája a „Zhonghua Yi Xue Za Zhi” (a dolgozatban helytelenül gépelve) kínai kiadású, angol nyelvű folyóirat, illetve az Indian J Hematol Blood Transfus. (34. ref.).

Tartalmi kérdések:

- d. Milyen tapasztalatok gyűltek össze a t(12;21) transzlokációra pozitív gyermekkori ALL-betegek nyomon követésében a szerző munkacsoportja által kifejlesztett nagy érzékenységu, automatizált, kombinált immunfenotipizálás és interfázis FISH módszerrel a 2007-ben, illetve 2010-ben megjelent közlések óta?
- e. A 86. oldalon említett, mára már háttérbe szorult, neutrophil alkalikus foszfatáz (NAP) citokémiai eljárás azonos a 100. oldalon a táblázat aláírásában említett, jobban elterjedt terminológiájú granulocita alkalikus foszfatáz aktivitás (GAPA) eljárással?
- f. A legújabb teljes genom szintű, illetve egyre nagyobb érzékenységu módszerek alkalmazásával milyen új lehetőségek nyílnak a Ph+, biztosan el nem kötelezett összejt eredetű ALL, illetve a fel nem ismert CML-ből blasztos krízissel jelentkező kórképek elkülönítésére?
- g. Volt-e lehetőség tárolt DNS-ből utólagos genetikai vizsgálatok (pl. JAK2 V617F, calreticulin mutáció) elvégzésére a 3.3.1.b.2 fejezetben bemutatott 64, esszenciális thrombocythemiában (ET) szenvedő betegnél?
- h. A legújabb ismeretek tükrében milyen molekuláris különbséggel magyarázható a szerző által használt bcr+ ET és a Ph+ ET kórképek közötti eltérések?
- i. Mi a diagnosztikai, prognosztikai és terápiás jelentősége a myeloproliferatív kórképekben a szerző által észlelt B-sejt klónoknak?
- j. Mivel magyarázza a szerző, hogy a saját eredményei alapján az EBV pozitív PTCL esetekben gyakori Hodgkin-szerű daganat-sejtek előfordulása ellenére a két kórkép együttes megjelenése kifejezetten ritka?
- k. Az automatizált, 3 dimenziós interfázis citogenetikai meghatározási módszer 2012-es közlése óta sikerült-e előre lépni a rutin diagnosztikai alkalmazás irányában?

Formai észrevételek:

A magas tudományos színvonal elismerése mellett, és vállalva az esetenként kissé szörszálhasogató szerepet, a bíráló megbízatásánál fogva az alábbiakban kénytelen kitérni az értekezés általa fontosnak tartott formai hiányosságaira.

- I. A szokásosnál terjedelmesebb, ugyanakkor saját közleményeket nem tartalmazó dolgozat tagolása eltér a megszokottól: nincs egységes bevezetés, helyette az érdemi rész a „1. témakör: korrelált fenotípus/genotípus vizsgálat – klonális heterogenitás/evolúció haematológiai daganatokban” című, viszonylag rövid, 17 oldalas fejezettel kezdődik. Az „1. Témakör” után az olvasó várhatja a további témaköröket, de azok nem szerepelnek. A „Bevezetés – Eredmények – Megbeszélés” klasszikus tagolása témakörönként jelenik meg a „3. Klonális heterogenitás.....” című, általam „Eredmények”-nek tekintett fejezeten belül.

- II. A konvenció szerint először tárgyaljuk az eredményeket, azután pedig a következtetéseket, nem pedig fordított sorrendben, ahogy a 4. fejezet címe szól.
- III. Nem szerencsés a dolgozat címét szó szerint használni két fejezet címének is. Szintén nem szerencsés a tartalomjegyzék utolsó fejezetében az „Irodalomjegyzék” alatt a semmitmondó „Hivatkozások listája” alfejezetcím 10-szeres ismétlése.
- IV. A gyakorlatilag kezelhetetlen méretű, 605 tételes irodalomjegyzék 10, utalás nélküli alfejezetbe rendezése és a számozás alfejezetenkénti újrakezdése nem segítette elő a áttekinthetőséget: a csak számozott alfejezetekhez kénytelen voltam hozzáírni a megfelelő szöveges fejezet címét.
- V. A dolgozaton belüli tájékozódást elősegítette volna, ha a fejlécben a fejezet száma mellett a rövid címet is feltünteti a szerző.
- VI. Az 1. fejezetben nem találtam hivatkozást az 1. (2. old.) és a 87. referenciára (18. old.).
- VII. A 48. oldal első mondatában nem szerencsés egyetlen mondat alátámasztására 10 referenciára hivatkozni 1967 és 1985 között. Ehhez hasonlóan a 85. oldalon (3.3.1.a.1) középtájon a szövegben 9 referencia kerül említésre, a zárójelben azonban 10 található.
- VIII. A 49. oldal első mondatában nem szerencsés a „ma” időhatározót egy 2007-es és egy 2009-es hivatkozással alátámasztani. Ehhez hasonlóan a 85. oldal alján a „legújabb” kifejezéshez egy 2010-es referencia került idézésre.
- IX. Örökzöld téma az értekezések nyelvezete. Szinte mindig felmerülő probléma, hogy milyen mértékben kerüljenek beépítésre idegen szavak a magyar nyelvű szakszövegbe. A szerző túlnyomórészt latin írásmódot használt. Néhány szerencsétlen idegen szó: „sejtszortírozás” (2.3.1.g) „processzálás” (2.1.c) „szortíroztuk ki” (2.4.e) Magyarul nehezen értelmezhető fordítás: „sejtek totál nyert kromoszóma száma” (51. old.) „kromoszóma nyeres” (pl. 149. old). A magyar és a latin írásmód következetlen alkalmazása: megbeszélés vs. diszkusszió (tart. jegyz. 3.1.c), „kontrol” (90. old.).

A fenti formai hiányosságok nem érintik a bemutatott munka tudományos értékét. Összefoglalva megállapítom, hogy a jelölt jelentős eredeti tudományos eredményekkel gazdagította a hazai és nemzetközi tudományterületet. A bemutatott tudományos munka és az értekezés megfelel az MTA Doktora fokozat megszerzéséhez előírt követelményeinek, így javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását és sikeres védést követően az MTA doktori cím odaítélését.

Budapest, 2016. június 30.



dr. Tordai Attila
az MTA doktora
SE Kóréletani Intézet
tordai.attila@med.semmelweis-univ.hu