

**Opponensi vélemény dr. Pajor László: Klonális heterogenitás és evolúció haematológiai daganatokban c. MTA doktori disszertációjáról**

A disszertáció az onkológia egyik ha nem a legnagyobb problémáját és dogmáját elemzi a malignus daganatok klonális homogenitását vagy heterogenitását. Sokáig élt az a nézet hogy a malignus daganatok un. klonális betegségek egy transzformált sejtől indulnak ki és alapvető genetikai jegyeiket tekintve relatíve homogének. Később ez a dogma annyiban finomodott hogy a haematológiai daganatok klonális betegségek míg a szolid daganatok nem azok. Mára igazolást nyert az hogy a malignus transzformáció lényege a kromoszomális és genetikai instabilitás és mint ilyen klonálisan heterogén daganatokat eredményez és ez bármely daganatféleségben kimutatható, a haematológiaiakban is. Ez utóbbi daganatokban Pajor doktor 25 éves kutatásai is jelentősen hozzájárultak a korábbi dogma megtöréséhez. Csak sajnálni lehet hogy a disszertáció illetve annak bevezetője nem adott elég teret a fenti dogma kialakulásának és megtörésének történeti áttekintésére és az elmúlt évek ismereteinek összefoglalására, a szolid daganatok és haematológiai daganatok közötti árkok lebontására ami segítene a klinikai onkológia és a haematoonkológia közötti falak bontásához is.

A disszertáció szerkezete sajátos elegye a Tézis-szerű és publikációk mellékelését jelentő formának és a szabályos Módszer-Eredmények-Diszkusszió klasszikus formának. Az Anyag és Módszer rész 30 oldal és az egyes dolgozatok módszertanának részletes ismertetését tartalmazza, bár itt is következtelen a szerző a 4 alfejezet tekintetében mert az Eredmények/Diszkussziók 5 tagúak. (ez aztán a bíráló dolgát nehezítő faktorrá válik....) Igen zavaró hogy az egyes dolgozatok tematikájának megfelelően szinte cikkenként Eredmények és Diszkusszióval találkozunk 100 oldalon át, és ez nem azért zavaró mert nehéz átrágni magunkat a disszertáción hanem mert töredezetté teszi az amúgy hatalmas munkásság egységben való értékelését, a belső összefüggések megtalálását és az igazi újdonságok kiszemezését. Az irodalmi hivatkozások sajnos megint az egyes témakörökre bontottak 40 oldalon át, gyakorlatilag az eredeti közlemények hivatkozáslistái, nem egységesen számozottak, újfent megnehezítve a tájékozódást. Megjegyzendő hogy a kimerítő irodalmi hivatkozáslista alig-alig tartalmaz újabbakat, néhány 2012-14 közötti dolgozat kivételével gyakorlatilag 1990-2010 közöttiek megerősítve azt a korábbi észrevételemet hogy a sok és jelentős eredmény nem igazán került megfelelően friss nemzetközi megvilágításba.

Maga a disszertáció 27 közleményre épül melyek közül 23-ban első/utolsó tehát meghatározó szerepet játszó a jelölt, ezek össz-IF-a 50.6 (ami nem tűnik magasnak), idézettségük 238 ám ezek gyakorlatilag fele D1-es (4db) és Q1-es (6 db) magas minőségű közlemény.

A Disszertáció erőssége az Anyag és Módszer fejezet újdonságtartalma amely átnyúlik az Eredmények fejezetbe is mivel ez a XX. század utolsó évtizedének jelentős mikroszkópos technológiai fejlesztésére alapult, az automatizált mikroszkópiára, amely lehetővé teszi a tárgylemezeken lévő sejtek lokalizációját, újra-elemzését sokféle módszerrel (IHC és in situ hibridizáció kombinálása), sokparaméteres elemzés és in situ citofluorimetria. Ennek feltétele megfelelő morfometriai szoftverek innovatív továbbfejlesztése volt amelyben a jelölt aktívan részt vett (ATTOFLUOR, VIDAS, IMAN). A későbbiekben a digitális mikroszkópia felhasználásával az ilyen analízisek 3D rekonstrukciós formái is lehetővé válhattak amelyben a jelölt szintén aktívan vesz részt (3D Histech).

Nagyszámú gyermekkori pre-B-ALL elemzésére 8 paraméteres iFISH módszert dolgozott ki és kimutatta hogy az alacsony és a magas hiperdiploid alcsoportokban kromoszómaszám-elemzéssel 6.9/10.2 míg az érzékenyebb módszerrel 15.3/26.7 egyedi szubklón azonosítható, amelyek a kromoszomális instabilitás eltérő mértékét reprezentálják. Megjegyzendő, hogy ez a nagymértékű klonális heterogenitás nagyon hasonlít a szolid daganatokban megfigyeltekhez. iFISH elemzései azt is bemutatták, hogy a klonok keletkezésének milyen a hierarchiája, ami a 21-X-14 közös ősről épül. A vizsgálatok eredményeként egy triplex FISH eljárást dolgozott ki a diploid preB-ALL státusz meghatározására amelyet szabadalmilag is levédett.

Hazai nagyszámú preB-ALL csoportban elemezte a 12/21 transzlokációt mutató ETV6/RUNX1 fúziós génnel jellemzett alcsoportot: incidenciát 20%-nak ítélte meg hazánkban. Az általa kidolgozott KIIF módszerrel az ilyen leukémiák MRD státuszának elemzése 10<sup>-4</sup> érzékenységgel lehetséges: a módszer érzékenysége meghaladta a PCR alapú módszerekét. A betegség szubklinikai stádiumában a csontvelőben 12/21 transzlokációt mutató leukémia prekuzornak tartható sejteket azonosított amelyek prognosztikus szerepét is bemutatta. *A szerző „in utero” keletkező leukemia prekuzor sejtekként jellemzi ezeket: kérdésem hogy örökletes vagy in utero-szerzett génkárosodásnak gondolja ezt a kromoszomális transzlokációt ezen betegekben?*

Az iFISH technikát alkalmazta arra is hogy egy 17 betegből álló Ph+ ALL kohorszban megkísérelje igazolni egyértelműen a CML- vagy valódi primer ALL természetet/eredetet. Elemzései a CML- eredet melletti adatokat szolgáltatottak, a kohorszban primer ALL-re utaló jelek nem voltak. Egy másik Essentialis Thrombocytaemia kohorszban (64 beteg) szintén a bcr-abl/Ph+-ás jelentőségét elemezte, vagy is hogy nem-e lehet kapcsolata Ph+CML-lel. Az ilyen konstelláció hazánkban ritka (6.3%), de az ilyen ET morfológiailag megfelel a Ph-ET-nek. *A szerző feltételezése szerint az ET és CML közös genetikai őse a Ph+ sejtklón. Kérdésem hasonló a korábbihoz: örökölt vagy szerzett kromoszomális károsodásnak gondolja és mi lehet a carcinogén tényező emögött?*

A szerző saját anyagán is igazolja hogy a CML típusú MPS-ben bcr+ és bcr- klónok is vannak, bár Ph+ valamennyi...ebből azonban meglepő következtetésre jut: a abl-gátló TKI terápia monitorozása szempontjából a DNS alapú módszert részesítené előnyben. *Miután az abl-inhibitorok a fehérjén tudnak csak hatni, véleményem szerint az mRNS alapú MRD tesztelésnek kell lennie az evidencia alapú predikciós diagnosztikának!* KIIF technikával Ph+ HCL-t is talált amely CML talaján keletkezett. Elemezte azt is hogy a B-sejtes fenotípus MPN-ben gyakoribb mint a detektálható genetikai markere az IgH-R+ (32% versus 5%). Szomatikus hipermutáció analízissel egy pre- és postfollicularis eredetű CML- variáns létezését tételezte fel amely különbözik a CML-LVC formától.

A célzott terápia előtti időből származó CML kohorszban elemezte a bcr-abl expressziót és annak igen nagyfokú heterogenitását észlelte és tapasztalta annak függetlenségét a tumortömegtől. Az IFN-kezelés hatására a bcr-abl expresszió csak a major citogenetikai választ mutató alcsoportban volt észlelhető. A mai korszerű TKI-kezelt CML betegcsoportban is hasonló megfigyelést tett. Az iFISH minták automatizált feldolgozására/értékelésére 3D-iFISH módszert dolgozott ki és meghatározta pozitív és negatív prediktív erejét a major citogenetikai válasz szempontjából (15% csontvelői határértékkel kalkulálva).

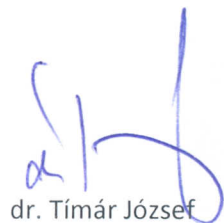
Nagyszámú perifériás T sejtes lymphoma kórlefolyása során kimutatta hogy az immunszuppresszió hatására EBV+ B-sejtes klónok nagyméretű felszaporodása következik be és ezen sejtek immunfenotípusuk és genotípusuk alapján a klasszikus Hodgkin kór RS sejtjeinek felel meg. A szerző

véleménye szerint a megfigyelt folyamat a Hodgkin kór keletkezésének „in vivo” modelljét szolgáltatja és un. in situ betegség stádiumának tartja.

A fentiek közül új eredménynek az alábbiakat fogadom el:

1. Gyermekkori per-B-ALL hiperdiploid alcsoportjában elemezve a klonális heterogenitást megállapította hogy a közös ős egy 21-X-14 kromoszóma triplet károsodással jellemezhető.
2. A diploid pre-B-ALL meghatározására egy triplex iFISH módszert dolgozott ki és szabadalmaztatott
3. Az általa kidolgozott kombinált immunfenotípus-interfázis FISH eljárással a pre-B-ALL egy molekuláris alcsoportjának (12-21 kr. transzlokációs forma) MRD státusza nagyobb érzékenységgel elemezhető mint PCR-alapú módszerekkel
4. Kidolgozott egy 3D-iFISH módszert amely a CML bcr-abl genetikai károsodásának detektálására kiválóan megfelel
5. Perifériás T sejtés lymphomák elemzésekor EBV+ B-sejtés klónok felszaporodását észlelte, amelyek immunfenotípusuk és genotípusuk alapján Hodgkin kór RS sejtjeinek feleltek meg, ezzel a Hodgkin kór keletkezésének lehetséges mechanizmusát mutatta be.

Az opponens a disszertáció nyilvános vitára tűzését javasolja és egyben annak eredményei alapján az MTA doktora fokozat odaítélését is.



dr. Tímár József

az MTA doktora