

MTA doktori értekezés opponensi bírálatára adott válasz

Jelölt: dr. Bakonyi Tamás

Az értekezés azonosítója: dc_1462_17

Az értekezés címe: Csípőszúnyogok közvetítette flavivírus fertőzések Európában

Hivatalos bíráló: Dr. Minárovits János, az MTA doktora

Tisztelt Bíráló!

Köszönöm szépen doktori értekezésem szakmai bírálatára fordított idejét és energiáját, valamint az opponensi véleményében megfogalmazott elismerő szavakat! A dolgozatban maradt gépelési hibákért elnézést kérek! Az ízléslábú taxonok latin neveinek írásmódjával kapcsolatban szeretném megemlíteni, hogy az International Commission on Zoological Nomenclature (www.iczn.org) ajánlásait tekintettem mérvadónak. A bizottság által jegyzett, International Code of Zoological Nomenclature, 2000 január 1. óta hatályos, negyedik kiadásának (<http://www.iczn.org/iczn/index.jsp>) Appendix B 6. pontjában ez szerepel: „The scientific names of genus- or species-group taxa should be printed in a type-face (font) different from that used in the text; such names are usually printed in *italics*, which should not be used for names of higher taxa.” Emiatt az értekezésben a gerinces gazdák és ízléslábú vektorok nemzetség- és fajneveit dőlt betűvel, a magasabb rendszertani kategóriák neveit viszont nem dőlt betűvel írtam.

Köszönöm szépen a kutatásainkkal kapcsolatban feltett kérdéseit is! A következő válaszokat tudom adni rájuk:

Ad 1.: A flavivírusok fertőzési módját számos kutatásban vizsgálták. Azt egyértelműen bizonyították, hogy jellemzően receptor-mediált endocitózissal jutnak be a vírusok a gazdasejtbe. A folyamat összetett és sok ponton még nem tisztázott elemekből áll. A kutatások eredményei arra utalnak, hogy vannak olyan sejtfelszíni képletek, amelyek csupán a vírus megtapadásában (adszorpciójában) játszanak szerepet. Az endocitózis mechanizmusának beindításáért felelős receptorok kisebb számban vannak jelen és az adszorpciós receptorokkal rögzített vírusok stimulálják a működésüket. A nyugat-nílusi vírus adszorpciójában és sejtbe jutásában legalább nyolcféle sejtfelszíni képletet azonosítottak az eddigi kutatások. Ezeket a kutatásokat, többek között Perera-Lecoin és mtsai. (2013) valamint Rey és mtsai. (2017) szemlecekkei, illetve az azokban hivatkozott publikációk ismertetik. A legtöbb flavivírus esetében a heparán-szulfát (glükozaminoglikán) szerepét bizonyították az adszorpciónál. A WNV és a DENV esetében több tanulmány is igazolta C típusú lektinek szerepét. A DC-SIGN/L-SIGN szükséges ahhoz, hogy a WNV fertőzze a bőr dendritikus (Langerhans) sejtjeit és egyes makrofágokat. Szúnyog (C6/36) sejtvonalon mannoz-gazdag glikánok jelenléte segítette elő a DC-SIGN-függő fertőzési utat. Valószínűleg a DC-SIGN és a mannoz receptorok együttműködésével bekövetkező endocitózis a fő fertőzési mód. Szúnyogsejtekben a mosGCTL-1 és mosPTP-1 nevű, C típusú lektineknek tulajdonítanak fontos szerepet a WNV

fertőzésben. Az integrin $\alpha\beta 3$ (vitronectin receptor) WNV lineage II törzsével végzett kísérletben elsődleges receptornak bizonyult; viszont egy másik kísérletben $\alpha\beta 3$ integrin nélküli sejteket is fertőzött a WNV lineage I törzse. További kutatások a laminin receptor szerepét igazolták emlős és szúnyogsejtek WNV fertőződése során. A közelmúltban ismerték fel azt, hogy emlősökben a WNV (és más flavivírusok) az E fehérjétől függetlenül is fertőzheti a makrofágokat. Ilyenkor a vírus burkában található, negatív töltésű lipidek (pl. foszfatidilszerin) aktiválják a TIM (T cell immunoglobulin mucin domain) és TAM (Tyro3, Axl és Mer) receptorcsaládokat. Ezeknek a receptoroknak a normális feladata az apoptotikus sejtek felismerése és fagocitózisa. A vírus ezért úgynevezett „apoptotikus mimikri” segítségével jut be a sejtbe. A természetes ölüsejtek fertőződésében a NKp44 nevű, aktiváló receptor is szerepet játszik. Összességében tehát úgy tűnik, hogy a WNV alternatív folyamatokat fejlesztett ki a különböző sejttypusok fertőzésére. Az USUV esetében még nem jelentek meg olyan közlemények, amelyek a vírussfertőzés mechanizmusának részleteit írják le.

Ad 2.: A 2010-es görögországi WNV járvány során lázas és idegrendszeri tüneteket mutató betegekből gyűjtött savó- és liquorminták szerológiai vizsgálatával igazolták a fertőzéseket. A minták RT-PCR vizsgálatai negatív eredménnyel zárultak (Papa és mtsai., 2010). A járványkitörést követően a görög vérellátó szolgálat megkezdte az érintett területen élő véradókból származó minták vizsgálatát WNV jelenlétére. Már az első vizsgálati napon találtak egy pozitív vérmintát. A PCR termékek szekvenciái megegyeztek a szúnyogokból kimutatott vírussal (Papa és mtsai. 2012).

Ad 3.: A circovírusok ssDNS vírusok, amelyek osztódó sejtekben, így elsősorban hámsejtekben és fehérvérsejt-előalakokban szaporodnak. Szaporodásuk során károsítják az immunrendszert. Ezt támasztja az is alá, hogy a vírussfertőzést követően megfigyelhető leggyakoribb kórszövettani elváltozás a nyirokszervek (a thymus, a lép és a bursa Fabricii) lymphoid depléciója. A circovírus fertőzés önmagában jellegtelen tüneteket okoz(hat) (pl. fejlődésben visszamaradás, szétnövés, tollasodási zavarok). Legjelentősebb hatása, hogy egyes fertőző betegségek lefolyását, súlyosságát megváltoztatja. A liba circovírus fertőzés egyik leggyakoribb következménye, hogy a liba parvovírus által okozott Derzsy-betegség, amely jellegzetesen 1-3 hetes korú kislábakban jelentkezik, circovírus társfertőzés mellett idősebb korban is kialakulhat. Feltételezhető, hogy a vizsgált lúdállományban a circovírus fertőzés közrejátszott abban, hogy a WNV lineage I törzse jelentősebb megbetegedéseket és elhullásokat okozott. Bizonyítani viszont ezt sajnos nem tudjuk, mivel nem sikerült a WNV-t izolálnunk és így nem lehetett annak patogenitását vizsgálni.

Ad 4. és 5.: A vírusok gazdaspektrumában és patogenitásában megfigyelhető eltérések a virológia és a kórtan érdeklődésének homlokterében állnak. Bizonyos esetekben egyértelműen azonosítható, hogy milyen felszíni fehérje változások befolyásolják azt, hogy az adott vírus tudja-e az adott gazdafaj vagy egyed sejtjeit fertőzni (pl. kutya parvovírus 2, human immunodeficiency virus). A flavivírusok esetében, az első kérdésre adott válaszból is kitűnik, hogy jóval bonyolultabb folyamatok befolyásolják azt, hogy az adott vírus képes-e az adott gazdafaj sejtjeit fertőzni, illetve azokban elszaporodni. Ezt még tovább bonyolítja, hogy az egyes fajokban eltérőek lehetnek a veleszületett (innate) immunitás folyamatai. Ezek befolyásolhatják a vírusszaporodás sikerét valamint a fertőzés

kórtani következményeit is. Gyakran az adott fajban evolúciós szempontból új kórokozó ellen olyan intenzív immunreakciók alakulnak ki, amelyek súlyos tünetekkel és akár elhullással járnak (ld. egyes vérzéses lázak). A flavivírusok, bár viszonylag euryxen vírusok, mégis szaporodni, vagy betegséget okozni a potenciális gerinces gazdáknak csak egy részében tudnak. Sajnos még arra vonatkozóan sem ismerünk minden részletet, hogy a legintenzívebben vizsgált gazdafajban, az emberben mi határozza meg a flavivírusok szaporodását és patogenitását. Nem meglepő, hogy más fajokban a vírus eltérő módon szaporodik és okoz megbetegedést. Bár mindhárom vizsgált gazda madár, de eltérő rendekbe tartoznak (házityúk – Galliformes, házilúd – Anseriformes, feketeregő – Passeriformes). A köztük levő genetikai távolság kb. akkora, mint az ember és a kutya vagy a háziegér között. Valószínűleg hosszú évek kutatásaira lesz szükség ahhoz, hogy az USUV gazdaspektrumában és patogenitásában tapasztalt eltérésekre tudományosan megalapozott válaszokat találjunk.

Végezetül szeretném ismét megköszönni, hogy elvállalta értekezésem szakmai bírálatát és tisztelettel kérem válaszaim elfogadását!

Köszönettel és üdvözléssel,



Bakonyi Tamás
doktorjelölt

Az opponensi bírálatára adott válaszban hivatkozott irodalom:

Papa A, Danis K, Baka A, Bakas A, Dougas G, Lytras T, Theocharopoulos G, Chrysagis D, Vassiliadou E, Kamaria F, Liona A, Mellou K, Saroglou G, Panagiotopoulos T. 2010: [Ongoing outbreak of West Nile virus infections in humans in Greece, July-August 2010](#). Euro Surveill. 15. pii: 19644.

Papa A, Politis C, Tsoukala A, Eglezou A, Bakaloudi V, Hatzitaki M, Tsergouli K. 2012: [West Nile virus lineage 2 from blood donor, Greece](#). Emerg Infect Dis. 18:688-689.

Perera-Lecoin M, Meertens L, Carnec X, Amara A. 2013: [Flavivirus entry receptors: an update](#). Viruses. 6:69-88.

Rey FA, Stiasny K, Heinz FX. 2017: [Flavivirus structural heterogeneity: implications for cell entry](#). Curr Opin Virol. 24:132-139.