

Prof. Dr. Minárovits János

egyetemi tanár
az MTA doktora

Szegedi Tudományegyetem
Fogorvostani Kar
Orálbiológiai és Kísérletes Fogorvostudományi Tanszék

Tárgy: MTA doktori
disszertáció bírálatára adott
válaszok

Tisztelt Professzor Úr!

Ezúton is szeretném megköszönni, hogy disszertációm bírálatára szóló felkérést elfogadta, és kérdéseivel, észrevételeivel segítette munkámat.

Válaszaimat az Ön kérdéseinek sorrendjében és azok megismétlésével részletezem:

1. „A 69. oldalon megemlíti, hogy a Krími-kongói vérzések vírusa AP92 jelű törzs apatogén vagy alacsony patogenitású. Miben különbözik az AP92 törzs a patogén törzsektől?”

Válasz: A tényleges válaszom előtt, szeretném röviden ismertetni az AP92 törzshöz kapcsolódó legfontosabb információkat, ez ugyanis segítség adhat a válasz értékeléséhez. A Krími-kongói vérzések vírusának (KKVLV) AP92 törzsét először 1975-ben írták le Görögországban *Rhipicephalus bursa* kullancsból (Papadopoulos és Koptopoulos, 1980). A virális örökítőanyaggal végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy a genetikai különbség több mint 20% a KKVLV többi, ismert törzsével összehasonlítva. Habár a kutatások ezzel a törzsszel nem olyan intenzívek, mint a magasabb patogenitású KKVLV törzsekkel, mégis számos országban kimutatták már ennek a variánsnak a jelenlétét. Többek között Törökországban, Bulgáriában, Albániában, Algériában és Iránban is (Middili és mtsai., 2009; Papa és mtsai., 2014; Sherifi és mtsai., 2014, Kautman és mtsai., 2016, Salehi-Vaziri és mtsai., 2016; Panayotova és mtsai., 2016). Jelenleg a filogenetikai analízisek alapján 7 különböző variánsát ismerjük a vírusnak, ezek: Afrika 1, 2 és 3; Ázsia 1 és 2, valamint az Európa 1 és 2. Európa tekintetében az Európa 1-es variáns referencia törzse a Hoti-Kosovo törzs, míg az Európa 2-es variáns az AP92-es törzs. A vírus első igazolt klinikai fertőzését Middili és munkatársai 2009-ben írták le Törökországban egy 6 éves gyermek mintájából, akit 3 nappal a tünetek megjelenése előtt kullancs csípett. A gyermek fertőzése enyhe lefolyású volt. Ezzel szemben Salehi-Vaziri és munkatársai 2016-os publikációjában egy halálos kimenetelű fertőzésről számoltak be Iránban, amit ugyancsak az AP92 törzs okozott. Ezt az egy esetet kivéve, a vírussal foglalkozó szakemberek körében elfogadott az a nézet, miszerint az AP92-es törzset alacsony patogenitású, enyhébb betegséget okozó változatként tartják számon.

Azt, hogy mi a pontos különbség a fertőzési mechanizmusban, illetve a vírusok patogenitásában az AP92 és az Ázsiában, Európában és Afrikában ismert magas fertőzőképességű törzsek között még nem teljesen ismert. Tudásunk szerint, ilyen jellegű célzott vizsgálat csak néhány esetben történt. Ennek egyik fő oka, hogy nincs megfelelő állatmodell a kísérletekhez, illetve, hogy a BSL-4 laboratóriumi facilitások száma is limitált. Ezidáig két alkalmazható állatmodellt írtak le, amely megoldást jelentene: felnőtt I-es típusú interferon (IFN) receptor génmódosított (knockout) egerek, valamint felnőtt STAT-1 génmódosított egerek. Az ismert, hogy az I-es típusú INF-oknak jelentős szerepük van azon

gének indukálásában, amelyek közvetlen szerepet játszanak a vírusok replikációjában, pathomechanizmusában és terjedésében.

Fajs és munkatársai (2014) azt vizsgálták, hogy KKVLV nukleokapszid fehérje képes-e antagonistaként szerepet játszani az I-es típusú interferon válaszbán, valamint arra is kíváncsiak voltak, hogy a három filogenetikai szempontból megkülönböztetett KKVLV törzs (IbAr10200 – Afrika 3; Hoti-Kosovo – Európa 1 és AP92 – Európa 2) között van-e különbség az I-es típusú interferon válasz elnyomási képességben. Vizsgálati eredményeik azt mutatták, hogy sem az IbAr10200, sem pedig az AP92 törzs nincs hatással az IFN- β promóter aktivitására. Ezzel szemben a Hoti törzs 30%-al csökkentette ezen promóter aktivitását. A fő következtetés az volt, hogy az interferon-I válasz gátlása törzs specifikus, azonban ez a kísérlet sem magyarázza az AP92 törzs alacsony patogenitását.

Kutatócsoportunk jelenleg is végez kísérleteket BSL-4-es szintű laboratóriumunkban a vírusfertőzés sejtszintű mechanizmusainak pontosabb megismerésére. Reményeink szerint Professzor Úr által feltett kérdésre is tudunk ezen kísérletek eredményeinek értékelésével választ adni a jövőben.

2. „*A kullancsenkefalitisz vírust gyakrabban tudta kimutatni Ixodes ricinus lárvákból, mint nimfákban. Mi lehet ennek a megfigyelésnek a magyarázata?*”

Válasz: Michelitsch és munkatársai 2019-es (Viruses) publikációjukban nagyon hasznos gondolatokat fogalmazott meg a kullancsenkefalitisz vírus átadási lehetőségeiről, valamint a vírus és gazdaszervezete között fennálló kapcsolatokról. A „co-feeding” (magyarra nehéz fordítani, de talán az együttes táplálkozás lenne a legmegfelelőbb kifejezés) mechanizmus a vírus átvitelének egyik ismert és fontos módja. Lényege, hogy a fertőzött kullancs egyidejű, ugyanazon állatról történő közeli táplálkozása révén képes átfertőzni a még nem fertőzött kullancsot a gazdaszervezet virémiás állapota nélkül is. Ez a mechanizmus akkor is működik, amikor a parazitált állat rendelkezik már specifikus antitestekkel a vírus ellen. A kullancsenkefalitisz vírus egyik fő vektorának számító *Ixodes ricinus* kullancs lárvá és nimfa stádiumainak aktivitási ideje egybeesik, így a „co-feeding” mechanizmus révén megteremtik az egyszerűbb átfertőződés lehetőségét e két juvenilis stádium között. Jelentős különbség van a gazdaállat parazitálásának tekintetében is a kullancs fejlődési stádiumai között. Míg a felnőtt állatok inkább a nagyobb szervezetekről (pl. szarvas, őz, róka) táplálkoznak, addig a lárvá és nimfa a talaj közelében mozgó és így könnyebben elérhető kis- és közepes méretű állatokat (pl.: rágcsálókat) célozzák meg.

Az előbb leírt mechanizmus feltételezhetően nem magyarázza a pozitív lárvák és nimfák közti különbséget, de magyarázatul szolgálhat a felnőtt és juvenilis fejlődési stádiumokban észlelt pozitívítási eltérésekre. Az előbbi különbség magyarázata feltételezhetően csak a random gyűjtött minták véletlenszerű kiválasztásából adódhatott.

3. „*Megbetegíti-e a denevérekben kimutatott astrovírus és calicivírus törzsek a különböző denevér fajokat?*”

Válasz: Mind az eddigi szakirodalmi adatok, mind pedig saját terepi mintavételezési tapasztalataink azt mutatják, hogy a vírust hordozó állatok semmilyen tünetet nem mutatnak. Mintavételezésünkör is az állatok jó általános állapotban voltak, egészségesnek tűntek, semmilyen szemmel látható betegséget nem tudtunk leírni. Ennek megfelelően mi is meg tudjuk erősíteni egyéb kutatócsoportok azon megállapítását, hogy a fertőzött állatok teljesen tünetmentesek maradnak.

Fisher és munkatársai által 2017-ben a Viruses folyóiratban közölt összefoglaló tanulmányban is erre a következtetésre jutottak, nevezetesen az eddig publikált adatok alapján egyértelműen látszik, hogy (legalábbis) az astrovírusok igen magas prevalenciával vannak jelen a vizsgálat mintákban, de semmilyen klinikai tünetet nem mutatnak. A szerzők kitérnek

arra is, hogy hasonló jelenség megfigyelhető egyéb, denevérek által hordozott magasán patogén vírus esetében is (pl.: henipavírusok, filovírusok). Ezen vírusok esetében is komoly humán fertőzések jöhetnek létre, míg a denevérekben a vírus perzisztensen, tünetmentesen van jelen. Meg kell jegyezni, hogy az említett tanulmány jelenleg a legnaprakészebb összefoglaló írás a témában.

4. „*Elképzelhetőnek tartja-e, hogy a denevérekben kimutatott astrovírus és calicivírus törzsek más állatfajok sejtjeiben vagy emberi sejtekben is képesek replikálódni?*”

Válasz: Jelen tudásunk szerint a denevérekben kimutatott astrovírus és calicivírus törzseket nem sikerült más állati vagy emberi sejtekben szaporítani. Sőt, egyéb denevér sejt vonalakon sem jártak sikerrel a kutatók. Ugyanezt tapasztaltuk mi is kísérleteinkben, sem majom (pl.: Vero, VeroE6), sem humán (pl: HEK, A549), sem pedig denevér (Tb1-Lu) sejt vonalakon nem sikerült izolálnunk a vírusokat.

Az előzőekben is említette 2017-es összefoglaló közleményben Fisher és munkatársai az izolálás nehézségeire is kitérnek. A publikáció is arról számol be, hogy ezidáig denevérekben kimutatott astrovírusokat nem sikerült izolálni semmilyen sejtben. Természetesen ennek számos oka lehet: pl. a megfelelő sejt vonalak használata, a megfelelő mennyiségű fertőzőképes víruspartikula megléte. Ezenkívül nagyon keveset tudunk a denevérekben kimutatott astrovírusok esetében a vírus-sejt kapcsolatról illetve a vírus tényleges bejutásáról. Látva az astrovírusok diverzitását denevérekben és ismerve az előbb említett tudományos tényeket, nem meglepő, hogy ezeket a vírusokat még nem sikerült *in vitro* izolálni sejtekben. Itt szeretném megemlíteni, hogy tudományos munkásságom első időszakában magam is sokat foglalkoztam humán astrovírusok kimutatásával, izolálásával, így azt is jól tudom, hogy még a beteg gyermekből kimutatott vírust is igen nehezen lehetett sejtekben izolálni és csak bizonyos humán astrovírus típusok replikálódtak sikeresen.

Remélve, hogy opponens úr válaszámat elfogadja, szeretném ismét megköszönni kérdéseit és áldozatos munkáját.

Tisztelettel és köszönettel: _____
Prof. Dr. Jakab Ferenc

Pécs, 2020. február 15.