

Opponensi vélemény

Dr. Veres Gábor: „Immunmediált gasztroenterológiai kórképek epidemiológiájának, diagnosztikájának és pathomechanizmusának jellemzői”

című MTA doktori értekezéséről

Dr. Veres Gábor az immunmediált gasztroenterológiai kórképek közül a gyulladásos bélbetegségek (IBD) 2 csoportjának (ulceratív kolitisz, Crohn betegség), a cöliakia, és az allergiás kolitisz betegségekkel kapcsolatos klinikai és kísérletes vizsgálatainak összefoglalásaként nyújtotta be fenti címmel doktori értekezését.

Az értekezés alapjául szolgáló vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem I. sz. Gyermekgyógyászati Klinikáján végezte, hazai és részben külföldi együttműködésekben, hazai és Európai uniós pályázati források felhasználásával.

Az immunmediált gasztroenterológiai betegségek egyre növekvő számú és klinikailag különböző megjelenése, diagnosztikai és terápiás eszközeinek bővülése ad alapot a dolgozatban vizsgált, viszonylag emelt számú betegség vizsgálatára. A gyulladásos bélbetegség gyerek és csecsemőkorban emelkedő számban jelenik meg. Kezelése élet hosszanti gondozást jelent. A gyulladásos bélbetegség diagnosztikája, azonosítása, differenciál diagnosztikája egyéb hasmenéses kórképektől a klinikai kép diverzitása, a betegség változó megjelenése miatt különböző methodikákat igényelhet. A korai diagnózis azonban a helyes terapia megfelelő időben történő alkalmazásával csökkenti illetve későbbre tolja a súlyos szövődményes stádium megjelenését.

Az ulceratív kolitisz, a Crohn betegség, a lisztérzékenység, az allergiás kolitisz betegségeknek ismeretlen a kialakulásuk oka és ezért oki terápiájuk sem létezik.

A jelölt célul tűzte ki a fenti betegségek komplex klinikai és molekuláris vizsgálatát.

A tudományos munka az alábbiakra terjed ki :

Gyulladásos bélbetegségek:

Magyar gyermek IBD regiszter kialakítása és működtetése

Infliximab kezelés hatásainak felmérése

Szerológiai markerek (MBL, PAB, GAB) elemzése és korrelációs vizsgálata

Pathomechanizmus tanulmányozása TLR2,3,4 expresszió vizsgálatra mRNS és fehérje szinten

intesztinális Alkalikus Phosphatase (iAP) expressziójának vizsgálata

Immunfenotípus eltérések vizsgálata az adaptív és veleszületett immunitási mechanizmusokban

Lisztérzékenység / Cöliakia betegségekben

Klaudinok 2,3,4 összehasonlító elemzése

iAP és HSP 72 fehérjék expressziójának változása a TLR4 lokalizációjához viszonyítva

Immunfenotípus eltérés vizsgálatok (adaptív és veleszületett immunitás)

Allergiás kolitisz

Laboratóriumi, endoszkópos és szövettani eltérések

Immunfenotípus eltérések (adapív és veleszületett immunitás)

A jelölt munkája kiemelkedő eredményekről tesz tanúbizonyságot. Az első vagy utolsó szerzős közlemények száma (13) impakt faktora (30 feletti érték), citációinak száma messze meghaladja az MTA doktora fokozat odaítéléséhez szükséges tudománymetriai követelményeket.

Klinikusként és kutatóként imponáló, hogy mindezek a törekvések és a jelölt eredményei nagyon komoly klinikai relevanciával bírnak. A betegségek országos regisztere, diagnosztikai eszköztárának bővítése mellett az immunmediált gasztroenterológiai kórképek okainak és alapjainak megismerése segíthet új diagnosztikai módszerek és therapiás célpontok azonosításában is.

A gyermekkori IBD országos megjelenések követése, új therapiás módszerek hatékonyságának vizsgálata, szerológiai tesztek fejlesztése fontos klinikai aspektus. Az IBD és allergiás kolitisz elkülönítés gyakorlati hétköznapi gond. Az IBD kialakulásában a cöliakia kifejlődésében, az allergiás kolitisz pathogenezisében a TLR gének, iAP gén, a HSP72 és klaudin vizsgálatok új ismereteket hoztak.

A benyújtott értekezés 151 oldalon foglalja össze a jelölt munkáját 41 szép kivitelezésű ábrával és 31 táblázattal. A dolgozat emellett feltünteti az értekezéshez felhasznált első és másodszerzős a PhD fokozat megszerzése után publikált 13 első és utolsó szerzős közlemény listáját.

A munka formai szempontból megfelel az MTA doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeknek. A dolgozat nyelvezete, szerkezete, ábrái és táblázatai élvezetes, tiszta, korrekt, hibáktól mentes. A 18-as táblázat szám kétszer került kiadásra, így utána a táblázatok száma és a hivatkozások nem fednek át. Kiemelem, hogy a bevezetés tisztán bemutatja a jelölt PhD dolgozata tartalmát, majd a vizsgált 3 betegség követhető klinika jellemzése mellett a diagnosztikai és pathomachnizmus kutatásokban vizsgált gének és molekuláris szabályozási utakra vonatkozóan is ad egy alapot. Ezzel a témával mélyebben, korábban nem foglalkozott olvasó, opponens is direkt bevezetést kap az a célkitűzésekhez.

Tekintettel arra, hogy az értekezésben szereplő vizsgálatok mindegyike korábban külön-külön átesett szakmai bírálaton, közleményként elfogadásra került és megjelent érdemi szakmai kifogásom nincsen. Ehelyett csupán néhány kérdésre, észrevételre várom a jelölt válaszát:

1. A HUPIR egy WEB alapu információs rendszer ? A betegadatok biztonságát hogy garantálják ?

A rendszer működésének adatainak ismertetése csak 2007 és 2010-et ölel fel. Egy 2013-ban opponálásra kerülő doktori dolgozatnál érthetetlen , hogy csak ilyen korai adatokról kapunk információt. MI ennek az oka ? Ha a HUPIR még működik, hogyan változtak 2010 óta a bemutatásra került adatok ?

2. Az endoszkópos vizsgálatok eredményei 9 és 36%-os diagnosztikus hozamot adtak. A jelölt arányosnak tartja a gasztroszkópos beavatkozás rizikóját, nehézségeit és

panaszait ezzel az eredménnyel ? Új generációs, nagy felbontású endoszkópok emelhetik-e ezt a hozamot ?

3. Az Infliximab kezelés eredményei hosszabb időtartamban milyen változást mutatnak ? Itt a felnőttekéhez hasonló therapiás hasznosulás, eredmény változás megfigyelhető e ?
4. Az MBL szint meghatározás során észlelt szignifikáns eltérés milyen p érték mellett mutatkozott ? Ez sem a fejezetben, sem a táblázatokban nem került megadásra.
5. A PAB, rPAB, GAB, ASCA és pANCA tesztek eredményei a célkítúzásban megadottakkal szemben a NOD2/CARD15 genotípussal nem került összehasonlításra. Nem volt korreláció, vagy pedig a jelölt ezt kihagyta az ismertetésből.
6. A TLR család 2,3,4 tagjainak vizsgálatai során volt e különbség a CD és UC között ? Hanem, milyen molekuláris markereket ismer a jelölt, mely a CD és UC differenciál diagnosztikájában szerepelhet ?
7. Az iAP mRNS expressziós vizsgálat eredményeinek bemutatására a 20-as ábra szolgál. Ennek y tengelyén mi látható ? Ez egy abszolút ciklus szám, korrigált ciklus szám ?
Ha korrigált , mi volt az alkalmazott house-keeping gén ?
8. A cöliakia egy fokozott bélpermabilitással járhat. Ehhez képes a talált fokozott klaudin expresszió hogyan magyarázható ? A klaudinok meghatározása csak IHC módszerrel történt , PCR-rel nem ?
9. Cöliakiában és IBDben is kimutatta az iAP és a TLR 4 fehérje kolokalizációját. Mi lehet ennek a fiziológiás szerepe a jelöl szerint ?
10. Az allergiás kolitisz differenciál diagnosztikailag az IBD-től kell elkülöníteni. MI indokolta ennek a betegségnek és a vizsgálatok eredményeinek utolsóként, és nem közvetlenül az IBDre vonatkozó fejezet utáni ismertetését ?

A felvetett kérdések nem csökkentik az MTA doktori értekezésben bemutatott munka értékét, nem kérdőjelezik meg annak eredményeit. Az értekezésben összefoglalt munka számos új, a PhD fokozat megszerzése óta született megállapítást tartalmaz. Jelölt munkája nemzetközileg is kiemelkedő, új eredeti tudományos eredményekkel gyarapította az általa művelt tudományterületet. A magas szintű módszertant és új megállapításokat tartalmazó tudományos munka az opponens véleménye szerint kimeríti a nyilvános vitára való bocsátás és eredményes nyilvános vita esetén az MTA doktori fokozat odaítélésének kritériumait.

Mindezek alapján javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását és eredményes nyilvános vita esetén az MTA doktora cím odaítélését.

Az értekezés új megállapításaként javasom elfogadni :

1. Magyarországon az **IBD gyermekkori incidenciája** $7,48/10^5$. Ez az index CD-ben $4,72/10^5$, UC-ben pedig $2,32/10^5$. A CD kétszer gyakoribb, mint az UC.
2. A **felső endoszkópia** (fekély, erózió, afta, granulóma igazolása) a CD-s betegek harmadában segíti a diagnózis felállítását. Perdöntő szerepet ennél kisebb arányban, a CD-s gyermekek tizedében játszik.
3. Országos felmérésben az **IFX-re** kedvező terápiás választ a gyermekek 82%-a adott, a fisztulák 70%-a bezárult. Nemzetközi szinten végzett felmérésem alapján 4458 IFX kezelést összegezve 3,8%-os gyakorisággal fordul elő akut infúziós reakció, amely hasonló a felnőtt adatokhoz.
4. A **PAB antitestek** jelenléte szignifikánsan magasabb CD-ben és UC-ben, de a szenzitivitása alacsony. A kombinációk alkalmazásával ez az érték javul, a PAB és ASCA/pANCA együttes alkalmazásával a szenzitivitás CD-ben: 87,4% és UC-ben: 79,6%. Ekkor a specificitás 89,3% (CD) és 93,2% (UC).
5. **CD aktív szakában** a Th1 prevalencia csökken, ezzel párhuzamosan az aktivált limfociták, dendritikus- és a memória sejtek aránya magasabb. Az újonnan kórismézett CD-ben a mieloid/plazmocitoid sejtek aránya, a TLR2/TLR4+ dendritikus sejtek aránya magasabb, mint a kontrollban.
6. **Az iAP fehérjeszintek** az IBD-s betegek és a cöliákiasok mukózájában is csökkennek. Az immunfluoreszcens festés mindkét betegségben igazolta az iAP és a TLR4 intraepiteliális kompartmenten belüli együttes lokalizációját. Ezek az adatok arra utalhatnak, hogy az alacsonyabb iAP enzim okozta csökkent LPS detoxifikációnak szerepe lehet mindkét kórkép patomechanizmusában.
7. A **CLDN2 és -3** mukózális expressziója cöliákiában fokozott, és ennek szerepe lehet a kórképben megfigyelt fokozott bélpermeabilitásban, valamint a boholykárosodás kialakulásában.
8. A **HSP72** expresszió a cöliákias gyermekek duodenális mukózájában magas, amely a gluténmentes diétát követően normalizálódott. Ez arra utal, hogy a fehérje szerepet játszhat a cöliákia patomechanizmusában.
9. **Cöliákias gyermekekben** Th1 és NK sejtek aránya alacsonyabb, ellenben az aktivált CD4+ T sejtek, a mieloid dendritikus sejtek, a TLR2 és TLR4+ dendritikus sejtek

aránya magasabb. A gluténmentes diéta után a legtöbb eltérés normalizálódott, bár érdekes módon a **veleszületett immunitás** sejtes elemeinek eltérései a diétázó cöliákiasokban is megmaradtak, egyedül az APC-k TLR4 expressziója normalizálódott.

10. Cöliákias egyénben a **plazminogénhiány** kóros TG2 kötéssel jár, amelynek szerepe lehet a fekély patomechanizmusában. Ennek alapján a cöliákiasokban egyre gyakrabban kórismézett ismeretlen eredetű fekélynél javasolható a plazminogénhiány kizárása.

Budapest, 2013. augusztus 15.

Dr. Molnár Béla
tudományos tanácsadó
az MTA Doktora