

Bírálati vélemény

Bajtay Zsuzsanna: „Komplementrendszer szabályozó szerepe monociták, makrofágok és dendritikus sejtek funkcióiban”
című MTA doktori értekezéséről

Bajtay Zsuzsanna MTA doktori értekezésében a komplementrendszer egyes komponenseinek az immunsejtek működésére gyakorolt hatását vizsgálja. A komplementrendszer az immunrendszer egyik legfontosabb effektor ágát képviseli és számos ponton kapcsolatot teremt a veleszületett és az adaptív immunitás között. A komplementrendszer aktiválódása során keletkező, a sejtek felszínére lerakódó fehérjemolekulákat az immunsejtek receptorai felismerik és megkötik. Ezek az események jelentősen befolyásolhatják az immunsejtek működését, ezáltal pedig az egész immunválaszt. A komplementrendszert felfedezésekor mindössze egy hatékony antibakteriális faktornak tekintették, ami mintegy kiegészíti (komplementálja) az antitestek hatását. Napjainkban egyre nyilvánvalóbbá válik, hogy a komplementrendszer aktiválódása az egész immunválasz lefolyására döntő hatással van; a komplementrendszer zavara számos betegség kialakulásához és súlyosbodásához járul hozzá. Bajtay Zsuzsanna munkája értékes felfedezésekkel gyarapítja ismereteinket a komplementrendszernek az immunsejtekre, ezen keresztül pedig az adaptív immunrendszer működésére gyakorolt hatásáról.

A doktori értekezés – nem számítva az irodalomjegyzéket – 83 oldalon keresztül tárgyalja a tudományos eredményeket. A disszertáció alapjául 11, a Ph.D. fokozat megszerzése után született közlemény szolgál. Jelölt ezek közül 4 publikációban első, ugyancsak 4 publikációban pedig utolsó szerző. Ehhez járul még további 13 publikáció, amelyek közvetlenül nem kerülnek tárgyalásra a dolgozatban. Bajtay Zsuzsanna közleményeinek szcientometriai mutatói megfelelnek az MTA által támasztott követelményeknek.

A disszertáció logikus felépítésű, jelölt sikeresen rendszerezte és foglalta össze kutatásai során elért eredményeit. Az „Irodalmi háttér” című fejezet rövid áttekintést ad a komplementrendszerrel (5 oldal), valamint a tanulmányozott immunsejtekről (monociták, makrofágok, dendritikus sejtek) (6 oldal). Külön alfejezet foglalkozik a C1q és az MBL molekulákkal és az ezeket felismerő receptorokkal (4 oldal). A komplementrendszer központi komponensének – a C3-nak – szerkezetét, aktiválódását (5 oldal) leíró alfejezetet követi az iC3b fragmentumot megkötő β 2-integrinokkal foglalkozó rész (4 oldal). Végül 4 oldal terjedelemben olvashatunk a komplementrendszernek a HIV fertőzés során betöltött szerepéről. A rövid „Célkitűzések”-et az ugyancsak rövid terjedelmű „Módszerek” fejezet követi. Az eredményeket 4 alfejezetben tárgyalja a szerző, összesen 43 oldal terjedelemben. Minden alfejezet rövid bevezetéssel kezdődik, amit a tömören megfogalmazott célkitűzés követ. Ezután következik az eredmények ismertetése. Az alfejezeteket az „Összegzés” című rész zárja, melyben szerző diszkutálja eredményeit. Ennek a felépítésnek az eredményeként minden alfejezet önálló egységet alkot a dolgozatban belül, világosan megfogalmazva az elért

eredményeket és azok jelentőségét. A dolgozat végén, az irodalomjegyzék előtt, található az eredmények összefoglalása 6 oldal terjedelemben.

A disszertáció megfelel a formai követelményeknek, szépen kivitelezett, jól dokumentált munka. A mű hiteles adatokat tartalmaz.

Az értekezés legfontosabb eredményeit az alábbiakban foglalom össze:

- 1.) Elsőként bizonyították, hogy monocitoid sejteken a C1q és az MBL receptora nem azonos. A két mintázatfelismerő molekula a monociták és makrofágok különböző struktúráihoz kötődve eltérő funkcionális hatást fejt ki.
- 2.) Megmutatták, hogy a DC-k C1q általi aktiválása vezethet az immunválasz fokozásához, vagy akár T-sejt toleranciához is, az adott szöveti környezettől függően.
- 3.) Kísérletekkel igazolták, hogy a C3 komponens aktiválódása során keletkező és az antigénbemutató sejtekre lerakódó C3b fragmentumok döntő módon hozzájárulnak e sejtek T limfociták aktiválására alkalmas sejtéretté válásához.
- 4.) Kimutatták, hogy MDC-ken a CR3 és a CR4 integrinek kifejeződése és funkciója eltérő. Bizonyították, hogy az MDC-k általi iC3b-vel opsonizált antigén felvételében a CR3 szerepe döntő fontosságú. Ezek alapján a CR3 egy új targetnek tekinthető az autoimmun kórképek kezelésében.
- 5.) Kísérleti adataikból arra következtettek, hogy a HIV-1 fertőzés korai szakaszában, az adaptív immunválaszt megelőzően, a fertőzött makrofágokból felszabaduló C3-nak lokális opsonizáló hatása lehet, ami segítheti a vírus eliminációját.
- 6.) Azt is megmutatták ugyanakkor, hogy a C3 fragmentummal opsonizált HIV-1 fokozza a produktív fertőzés hatékonyságát a CR3 receptor közreműködésével.
- 7.) Eredményeikből azt az általános jellegű következtetést lehet levonni, hogy a DC-k mikro környezetében jelen lévő, lokálisan termelődő és aktiválódó C3 döntő hatással van a sejtek aktivációjára és differenciációjára a különböző komplementkötő struktúrák között fennálló komplex kölcsönhatási hálózat révén.

Az értekezéssel kapcsolatos megjegyzéseim illetve kérdéseim a következők:

Az irodalmi összefoglalás néhány pontatlanságot, tárgyi tévedést illetve hiányosságot tartalmaz. Ezek a következők:

1.) (7. oldal, 2. bekezdés) A C1 komplexben nem „enzimatis aktivitással rendelkező C1r és C1s dimerek” vannak, hanem egy C1s-C1r-C1r-C1s szekvenciájú tetramer. A C1r₂-C1s₂ jelölés is félrevezető.

2.) (7. oldal, 3. bekezdés/ 17. oldal, 1. bekezdés) A lektin utat nem csak az MBL, hanem a fikolin tartalmú aktivációs komplexek is beindítják. A fikolinok fontosságát jelzi, hogy koncentrációjuk (781 nM) jóval meghaladja az MBL koncentrációját (48 nM). A fikolinok acetilált molekulákhoz kötődnek, amelyek a gyakorlatban acetilált cukrokat (pl. N-acetil-glükózamin) jelentenek. A fikolinok tehát az MBL-hez hasonlóan kapcsolódni tudnak a baktériumok sejtfalához. A fikolinok a dolgozatban mindössze egyszer, egy mondatban (18. oldal) kerülnek említésre, ami a jelentőségükhöz képest kevés.

3.) (7. oldal, 3. bekezdés) Az MBL-MASP komplexek nem csak a C4 hanem a C2 molekulát is hasítják, kialakítva ezzel a C3-konvertázt.

3.) (7. oldal, 4. bekezdés) A hidrolizált C3 (C3(H₂O)) nem képes patogének sejtmembránjához kikötni, mivel a tioészter kötés már elreagált a vízzel. Mint az a következő mondatban már helyesen szerepel, itt egy szolubilis C3-konvertáz komplex alakulhat ki.

4.) (21. oldal, utolsó mondat) A szöveg szerint „az utolsó proteolitikus hasítás” a C3 molekulában a C3dg és a C3c fragmentum keletkezéséhez vezet. Mint azonban később kiderül (pl. 7. ábra) a proteolitikus hasítások végeredménye a sejtmembránhoz kötődő C3d fragmentum. Valójában a C3dg az I-faktor általi proteolízis végterméke, azonban a C3dg fragmentumot egyéb, a gyulladás során felszabaduló proteázok még tovább hasítják a C3g és a C3d termékeket eredményezve.

5.) (45. oldal, 1. bekezdés) A C3 molekulában a tioészter kötés nem „cisztein-SH és glutamil-COOH csoport” között jön létre, hanem cisztein-SH és glutamin-CONH₂ csoportok között. Hidrolízis esetén természetesen cisztein és glutaminsav oldalláncokat kapunk, azonban ha a C3-t ammóniával kezeljük, visszkapjuk a génben eredetileg kódolt glutamin oldalláncot.

Kérdéseim a következők:

1.) Sem az értekezésből sem pedig a publikációkból nem derül ki, hogy milyen MBL-t használtak a kísérletekhez. Az MBL – szemben a C1q-val, ami mindig hexamer alakban van jelen – többféle oligomer alakban (a dimertől a hexamerig) is előfordulhat. A legfőbb oligomer forma általában a tetramer (amint ezt a 4. ábra is sugallja), azonban az egyes

preparátumok összetétele eltérő lehet. Ha feltételezzük, hogy a tetramer volt a preparátumban a domináns forma, akkor az azonos tömegkoncentrációjú (30 µg/ml) C1q és MBL oldatban a két fehérje nem ekvimoláris mennyiségben volt jelen. A mólarány ebben az esetben 1:1,6, vagyis több mint másfélszeres az MBL anyagmennyisége a C1q-hoz viszonyítva. Az MBL különböző oligomerizációs formái vajon azonos módon kötnek-e a receptorhoz? Kizárható-e, hogy a kis mennyiségben jelenlévő hexamer MBL ugyanahhoz a receptorhoz kötődik, mint a C1q, míg a tetramer forma másik receptorhoz?

2.) A C1q receptorait (kalretikulin, globuláris C1q receptor) viszonylag jól ismerjük. Lehet-e valamit tudni az MBL receptoráról?

3.) Vizsgálta-e valaki fikolinok kötődését az immunsejtekhez? Tekintetbe véve a fikolinok – különösen a H-fikolin – magas szérumkoncentrációját (624 nM), a fikolinok kötődésének élettani jelentősége lehet.

4.) A 46. oldalon olvashatjuk, hogy szérumból izolált natív C3-mal vagy normál humán szérummal kezelve imMDC-ket szignifikáns C3 kötődést lehet kimutatni a sejteken. Mi lehet az oka és a mechanizmusa ebben az esetben a C3 komponens aktiválódásának? Mennyire imMDC specifikus ez a jelenség, tekintetbe véve hogy, később (72. oldal) azt olvashatjuk, hogy MM sejtek esetében is hasonló jelenség figyelhető meg? Milyen fiziológiás szituációban találkozhat imMDC szérummal illetve C3-mal? Vajon minden ilyen találkozás C3 depozíciót eredményez?

A fenti észrevételek a dolgozat lényegi részét nem érintik.

Összefoglalva, Bajtay Zsuzsanna jelentős eredményekkel járult hozzá a komplementrendszer és az immunsejtek közötti sokrétű kapcsolat feltárásához. Tudományos teljesítménye megfelel az MTA doktori fokozathoz elvárt követelményeknek, ezért **javaslom a nyilvános vita kítűzését és az MTA doktori cím odaítélését.**

2014. december 1.

Gál Péter
tudományos tanácsadó
az MTA doktora