

Opponensi vélemény

Dr Gyulai Rolland

A pikkelysömör klinikai, biokémiai, immunológiai és genetikai jellegzetességeinek vizsgálata

c. doktori munkájáról

Dr Gyulai Rolland doktori értekezésének témája, mint azt a cím is sugallja, egyszerre szerteágazó, és egy témát felölelő. Pályafutását végigkíséri a psoriasis kutatása, olyan időben, amikor számos újdonság alapvető változásokat hozott a pikkelysömör pathológiájának megértésében és kezelésében. A disszertáció alapjául szolgáló közlemények összesített impact faktora 25.553, Idézettsége 382, független idézet: 362

Disszertáció alapját képező publikációk között találunk magyar és külföldi közleményeket és két lényeges kutatói megfigyelést védő ún. oltalmi formát, azaz szabadalomként bejegyzett, nem publikált adatokat is, melyeket a dolgozatban részletesen bemutat.

A 155 oldalas értekezés 328 irodalmi hivatkozást tartalmaz.

A dolgozat bevezetője irodalmi áttekintés, olvasmányos, pontos, jó magyarsággal megírt, és a releváns aktuális adatokat tartalmazza.

Az értekezés témája a jelölt fő kutatási területe, az emberiség 1-2 %-át, hazánkban mintegy 150.000 embert érintő autoinflammatorikus kórkép, a psoriasis, annak genetikai háttere, a betegekben a bőr szerkezetének és immunológiájának vizsgálata tünetes és tünetmentes mintákban, melyet klinikai megfigyelések egészítenek ki: a betegek életminőségének analízise, és a betegség hazai és nemzetközi kezelési szokásainak analízise. Kutatásai során robban be a klinikai gyakorlatba a biológiai terápiák alkalmazása, melyek számos új vizsgálati lehetőséget nyitottak tanulmányaihoz a fenti témákban.

A dolgozatban az immunológia, genetika, illetve epidemiológia számos részletesen dokumentált és igényes módszerével találkozunk, melyeket nemzetközi ill. hazai lapok lektorált közleményként fogadtak be.

A dolgozatban ismertetett eredmények

Genetika

Az aktuális tudástárba illesztett genetikai vizsgálatok bemutatása széles technikai repertoárt és irodalmi ismeretet igazol.

A TNFSF15 a TNF szupercsaládba tartozó ligand, más néven vascularis endothelsejt növekedést gátló faktor (VEGI), melynek sajátossága, hogy gátolja az endothelsejtek differenciációját, stimulálja a T-sejtek aktivációját, és polymorphismusai gyulladásos betegségek kialakulására hajlamosíthatnak. Hazai első vizsgálattal megerősítik a korábbi megfigyeléseket, hogy a génen bizonyos SNP-k

előfordulása közös tényező lehet az IBD és psoriasis pathomechanizmusában. Megállapítja, hogy a gén variánsok előfordulása a betegekhez köthető klinikai sajátosságokat követi.

ERAP1/HLA-C gének vizsgálata

A PSORS1 lókusztban elhelyezkedő HLA-Cw6 gén *0602 alléja a psoriasisban szenvedők 60%-ban kimutatható, és homozigóta formájában igen erősen megnő a betegségben a korai kezdet és a súlyos tünetek valószínűsége. Az ERAP 1 variánsok gyakran társulnak psoriasis, spondylosis ankylopoeticával és Bechet kórral. A szerző a két gén variációinak együttes előfordulását vizsgálja pikkelysömörben, és keres kapcsolatot a kórkép különböző formáival és klinikai sajátosságaival.

A munkacsoport a korai és késői életkorban fellépő ízületi károsodások elkülönítésekor új összefüggéseket talált az arthropathia psoriatica és az ERAP1 variációk között, valamint a betegségre való hajlam és a védettség között. Ezen kérdésekben az ERAP1-on belüli SNP kapcsoltságokat, valamint az ERAP1 és a HLA-C és B haplotípusok közötti kölcsönhatásokat is vizsgálja és értelmezi.

Saját és a korábbi adatok alapján megállapítják, hogy az ERAP1 és a HLA-C gének genetikai variációi a psoriasis kialakulását életkor függő módon befolyásolják. Felhívják a figyelmet arra, hogy a soktényezős betegségek pontos klinikai besorolása a személyre szabott orvoslás fontos lépése.

Kérdés.: Tudjuk, hogy a pustulosis kórformában is gyakori az ízületi érintettség. Van-e adat arra vonatkozóan, hogy társul-e az ERAP 1 variánsok előfordulása ehhez az altípushoz.

A pikkelysömör pathogenezisének és immunopathológiájának vizsgálata

A tünetmentes psoriasisos bőr fehérje szerkezetének vizsgálata

Egyszerű, non-invazív mintavétellel a psoriasisos beteg tünetmentes bőréről adhezív tapasszal nyert mintában elsősorban a leválasztott szarurétegek fehérje összetételét, annak másodlagos szerkezetét vizsgálták. Ehhez sávszűkítési eljárással módosított, gyengített, teljes reflexiós Fourier típusú infravörös spektroszkópiát alkalmaztak, ami egy viszonylag gyors módszer, és alkalmas a fehérje másodlagos struktúráinak kvantitatív megadására. Meg állapítják, hogy míg a vizsgált módszerrel a az egészséges bőr stratum corneum fehérjei többnyire alfa-helikális szerkezetűnek bizonyultak, a pikkelysömörös beteg egészséges bőrében bizonyos alfa struktúrák elvesztek, amelyek feltehetően a stratum corneum rugalmasságát biztosítják.

A regulátor T sejtek vizsgálata pikkelysömörben

A kórképben a keringő T sejtek megváltozott működésére számos adat utal, például a betegekből származó aktivált T sejtek psoriasiform hámprolifrációt váltanak ki állatkísérletben ill. keratinocita kultúrákban. A jelölt vizsgálta a CD4+ CD25+ (magas és alacsony) ill. CD25 negatív sejtek arányát a betegek keringésben, de nem talált eltérést ezen lymphocyták számában. Tovább karakterizálták munkacsoportjával ezen sejtek felszíni és intracelluláris antigénjeit, és ugyancsak nem találtak lényeges eltérést az egészséges és psoriasisos betegek T lymphocytáinak fenotípusa között.

Ugyanakkor jelentős különbséget mutattak a CD4+, CD25magas regulátor sejtek mind az alloantigén-specifikus mind a poliklonális TCR stimulációkra adott reakciókban. Így elsőként tudták kísérleteikkel

igazolni, hogy a pikkelysömörös betegek regulátor T sejtjeinek gátló működése meggyengült, és ezért nem tudják megfelelően blokkolni a psoriasisban hyperreaktív responder T sejtek aktiválódását. Komplex vizsgálatokkal igazolták, hogy az elmaradt reakciókészség a Treg sejtek stimulációját követő elégtelen IL2 termelésében keresendő.

Külön vizsgálták a keringésben a bőrbe vándorló CLA pozitív T reg sejtcsoporthoz is, és megállapították, hogy a CLA pozitív T sejt populáció gazdagabb Treg sejtekben. Leírták, hogy psoriasisban mind a CLA pozitív, mind a CLA negatív keringő T reg sejtek csak részlegesen tudták gátolni a responder T lymphocyta proliferációját.

A fenti kísérletek kiegészítéseként meghatározták a bőr Treg sejtjeinek számát és funkcióit is. Megállapították, hogy a dermális T sejtek jelentős része pikkelysömörben T reg fenotípusú, és a CD4+ CD25+ Treg, valamint a CD4+CD25- effector sejtek aránya psoriasisos tünetmentes bőrben a dermisben 1:6, az epidermisben 1:2. További vizsgálataik arra utalnak, hogy a pikkelysömörös bőrből izolált Treg sejtek száma mellett azok funkciója szintén károsodott, mert gyakorlatilag nem voltak képesek gátolni a az autológ perifériás vérből izolált CD4+CD25+ effector sejteket. Összegezve, a dermalis Treg sejtek száma is és funkciója is elégtelen ahhoz, hogy megfelelő mértékben gátolja a responder sejtek proliferációját.

A humán Treg sejtek azonosítására és szeparálására alkalmas sejtfelszíni marker azonosítása

(szabadalomként védett, nem publikált adatok)

Gén chip vizsgálataik során a Treg sejteken egy magasabb mRNS expressziót mutató ún. GARP (újabb nevén LRR32) gént figyeltek meg, mely egy LRRC családba sorolt fehérjét kódol, melynek akkor a funkciója ismeretlen volt. Kimutatták, hogy a GARP érzékeny és specifikus felszíni markere a regulatoros CD4+CD25+ T sejteknek, és ezt a megfigyelést azóta a GARP elleni ellenanyagokra épülő izolációs módszerekben is sikerrel alkalmazták ők is, és mások is. Vizsgálataik szerint a GARP mRNS a Treg sejtek aktivációjának érzékenyebb követője, mint a FOXP3 mRNS. További irodalmi adatok is igazolják, hogy a GARP funkciója szükséges a T reg szuppresszív hatásához.

Az IL1 R expresszió jelentősége

Vizsgálataik során kimutatták, hogy az IL1R család tagjai eltérő módon fejeződnek ki egészséges és psoriasisos T sejteken, elsősorban az aktivációjukat követően. Komplex vizsgálataik során kimutatták, hogy a beteg és egészséges immunrendszer funkciójának különbségeit nem a T sejt populációk száma és aránya, hanem a jelátvitelt biztosító és a nem jelátvivő receptorok megoszlása eredményezi.

Kérdés: Hol van a szerepe a az eltérő sejtpopulációkkal és szingálrendszerekkel operáló pustulosus psoriasisban az IL1 R expresszióknak?

A bőr TRPA1+ nociceptív neuronjainak szerepe az imiquimod indukált psoriasiform bőrgyulladásban

Vizsgálataikhoz módosították az imiquimod indukálta egérmodellt- kisebb mennyiségű hatóanyag alkalmazásával a kiértékelést zavaró szisztémás hatásokat jelentősen lecsökkentették. Kimutatták, hogy mind a TRPA1 vad és KO egérvizsgálatokban kialakult az Aldara indukálta psoriasiform bőrreakció, de a KO törzsben a komplex cytokin termelés (mRNS) és a bőrgyulladás korábban

jelentkezett és fokozottabb volt, bár a szöveti citokinek fehérje koncentrációja mindkét egértörzsben azonos volt. Előzetes eredményeik alapján az imiquimod képes aktiválni a TRPA1 csatornákat, és vizsgálataik arra utalnak, hogy a TRPA1+ nociceptív idegvégződészek aktiválódása képes módosítani a szövetspecifikus immunreakciókat, feltételezésük szerint pl. a dermalis dendritikus sejteken át az IL17-t termelő gamma-delta T sejtek aktiválásával, illetve gyulladást csökkentő neuropeptidek felszabadulásával.

Klinikai megfigyelések

A betegség súlyossága, életminőség és kezelési szokások felmérése

A jelölt tudományos kutatási mellett hatalmas energiával fog össze epidemiológiai vizsgálatokat, és irányít hazai és nemzetközi adatfeldolgozást. A Közép-Kelet-európai psoriasis betegek epidemiológiai sajátosságainak és életminőségének felmérése hiányt pótló vizsgálat. Rendkívül érdekesek a kezelési szokások, melyek szinte országonként mutattak eltérő terápiás dominanciát. A társuló metabolikus X szindrómának és az autoinflammatorikus betegségek arányának meghatározása egészségpolitikai szempontból jelentős adat minden résztvevő ország bőrgyógyászai és a finanszírozók számára. Azon betegeknél, akiknek a kezelés eredménye nem volt kielégítő, 68%-ban kezdtek biológiai terápiát, ami a régióban egy jelentős új lehetőség megvalósulása.

A dohányzás szerepe a periodontitis kialakulásában psoriasisban

A jelölt által vezetett munkacsoport psoriasisban szenvedő dohányzó beteg és nem psoriasisos egyén szájüregi vizsgálatát, a fogíny statusának felmérését összegzi és megállapítja, hogy a periodontitis kialakulása és súlyossága dohányzó pikkelysömörös betegekben szignifikánsan gyakoribb, mint a nem psoriasisos dohányosok között, és a súlyos periodontitis kialakulásának rizikója pedig a psoriasisos betegekben sokszorosa a kontroll csoporténak. .

Kérdés: Tudjuk, hogy a pikkelysömörös betegek között sokkal több a potator, és az alkohol is jelentősen rontja a fogíny állapotát, súlyos esetben fogvesztés is gyakori. Vizsgálták-e az alkoholfogyasztást a két csoport összehasonlítása során.

Citrullinált peptid ellenanyagok vizsgálata psoriasisban és arthritis psoriaticában

A citrullinált peptid és fehérjék elleni ellenanyagok (ACPA-k) vizsgálata, mint pl. a citrullinált mutált vimentin antitestek (anti-MCV) a RA új biomarkerei. A munkacsoport megállapította, hogy az anti-MCV ELISA módszer alkalmas egyes psoriasisos alcsoportok elkülönítésére, így pozitivitása súlyosabb klinikai lefolyást és/vagy ízületi érintettséget jelez már enyhe kórfarmákban is.

A TNF, TNF1, anti-TNF1 antitestek meghatározása

Kimutatták, hogy az anti-TNF biológiai terápia során keletkező ellenanyagok megjelenése mellett a hatásvesztés hátterében a blokkolt gyógyszer szint csökkenése mellett magasabb TNF szint volt mérhető infliximab és adalimumab kezelés során. A hatásvesztés új kezelést, illetve MTX kezelés beállítását tette szükségessé. Nem találtak ellenanyagot a receptort blokkoló etanercept terápiában részesülőkben, miközben a hatásvesztés és a TNF szint emelkedése ezekben a betegekben is megfigyelhető volt.

Kérdés: Mi az oka az etanercept rezisztenciának és a magasabb TNF szinteknek ellenanyagok hiányában?

A methotrexat kezelés klinikai gyakorlatának felmérése psoriasisban

A hazai munkacsoport nemzetközi psoriasis szakértők bevonásával érdekes, 4 hónapon át tartó internet alapú felmérésre vállalkozott, amelynek eredményessége figyelemre méltó: 63 ország 481 bőrgyógyásztól kaptak vissza kitöltött kérdőíveket. A módszer is figyelemre méltó, az itt összegyűjtött eredmények az általában megfigyelhető heterogén terápiás és követési alkalmazást összegzik. Számomra hiányzott egy általános javaslat megfogalmazása a dolgozatban a kérdőívre feltett 41 kérdésre, a különböző válaszok és a rendelkezésre álló hazai és nemzetközi irányelvei alapján.

Értékelés

Dr Gyulai Rolland doktori értekezése értékes, önálló munka. Mind az alapkutatás, mind alkalmazott kutatás, mind a klinikum területén számos tudományos kérdést fogalmazott meg, és válaszaiban hozzájárult az általa kutatott bőrgyógyászati téma, a psoriasis pathomechanizmusának, vizsgálatának és kezelésének fejlődéséhez.

Az értekezésben szereplő tudományos eredményeket elegendőnek tartom az MTA doktora cím megszerzéséhez, és a nyilvános védés kitűzését javaslom.

Budapest, 2017. június 30.

Dr Kárpáti Sarolta

egyetemi tanár, az MTA doktora

