

Opponensi bírálati vélemény **Dr. Kovács László** „*Szisztémás autoimmun betegségek immunopathológiájának és klinikumának egyes kérdései*” című MTA doktori értekezéséről

Az immunológiai eredetű betegségek patogenezise a mai napig is csak részlegesen ismert, így az érintett betegek ellátása, és a kapcsolódó klinikai kutatási területek nagy figyelmet és hozzáértést igényelnek. Dr. Kovács László ezen a területen kezdte meg klinikai-kutatói pályafutását, majd a Szegedi Tudományegyetem Reumatológiai és Immunológiai Klinikájának vezetőjeként folytatta szakmai tevékenységét. Tevékenységét kezdetektől fogva jellemezte a nyitottság az alapkutatási és fejlesztési kérdések felé, így nem meglepően legtöbb eredménye együttműködésekre épül. A bíráló bizottság előtt fekvő doktori mű egy értékes szeletet mutat be a főként az SZTE és az SZBK kutatóinak közös munkásságáról, melynek központjában a Sjögren szindróma és a szisztémás lupus erythematosus (SLE), és az azokkal kapcsolatos kérdések állnak. Kiemelendő, hogy a szerző folyamatosan, egész pályafutása alatt magas színvonalú klinikai kutatások résztvevője volt, és kiemelkedő jártasságú elméleti kutatócsoportokkal tudott együttműködni (ittthon és külföldön). Ez az aktivitás jó fokmérője az elvégzett munkának és visszaigazolja a klinikai-elméleti kollaborációk termékenyítő voltát.

A mű témaválasztása aktuális, szerkezeti felépítése és következtetései hűen tükrözik a hosszú klinikai kutatómunkát. Az értekezés világosan szerkesztett mű, a szerkesztés vezérfonala a bemutatott eredeti munkák és eredmények (cikkek) sorrendisége, melynek vonalából nemigen lép- vagy tekint ki a szerző.

Általános bírálat

Formai szempontok

Az értekezés formai szempontból megfelel a doktori művekkel szemben támasztott kritériumoknak, a szerző világosan tagolt fejezetekben tárja az olvasó elé munkája összefoglalását, konkrét célkitűzéseit, azok hátterét, majd a részletes „Betegek és módszerek”, „Eredmények” és „Megbeszélés” szakaszokban következik a mű lényegi része. Dolgozatát 268 adekvát tételt felsoroló irodalmi hivatkozási lista zárja. A mű magyar nyelven, összesen 128 számozott oldalon készült el, melyet 25 számozott ábra és 11 számozott táblázat illusztrál.

A doktori mű nem tartalmazza azokat a cikkeket, amelyek eredményeire közvetlenül épül, ezekre a cikkekre (és az azokban bemutatott részletekre) nem találtam utalást a szövegben. A doktori mű alapját képező 15 saját cikket fordított időrendi listán sorolja fel az értekezés végén.

A dolgozat nyelvezete egységes, a szöveg jól követhető, olvasmányos és csupán néhány elütés maradt dolgozatában melyek részletezésétől eltekintek, ugyanis ezek a szöveg értelmezését nem zavarják.

Scientometriai szempontok

Az értekezés részét képezi az MTMT adatbázis 2020. március 13-i összefoglaló táblázatának másolata, melyből az derült ki, hogy Dr. Kovács László teljes munkássága során 81 tudományos dolgozat (ebből 46 eredeti szakcikk) és 1 könyvrészlet megírásában vett részt, az összes cikkre kapott független hivatkozások száma 1249. A PhD fokozat megszerzése, tehát 2004 óta publikált cikkekre kapott összes független hivatkozások száma 761. Az értekezéshez felhasznált 15 cikk közül 10 esetben állapítható meg jelölt vezető szerepe (első vagy utolsó szerző). Mindezen mutatók alapján megállapítható, hogy jelölt tudományos aktivitása megfelelő, meghaladja az MTA doktori eljárásban elvárt küszöbértékeket. Örvendetes, hogy

az MTA doktori értekezéshez felhasznált, primer eredményeket bemutató művek között egy magyar nyelvű is található.

Részletes bírálat, kérdések

1, *Az adatok bemutatásával és értékelésével kapcsolatos kérdés:*

Obszervációs klinikai vizsgálatok esetén megalapozott döntéseket (kapcsolatok, predikciók) csak kiegyensúlyozott vizsgálati csoportok adataira alapozva lehet hozni. Amennyiben a vizsgálati csoportok nem kiegyensúlyozottak zavaró- és torzító tényezők szempontjából, adjusztált analízis is célravezető lehet. Munkája során eset-kontroll, eset-eset és kohorsz/kimenet típusú vizsgálatokat is végzett, ilyen összehasonlításokat tartalmaz a doktori mű (SS/SLE/kontroll, SLE/APS+ és SLE/APS-, ízületi betegek követése/relapszus), azonban következtetéseit nyers (egy szempontos) összehasonlításokra alapozza minden esetben (van ahol a szórás sincs feltüntetve az átlag mellett, pl. 5. táblázat első sora). Miért nem történt több szempontos (adjusztált) statisztikai analízis? Mit gondol, befolyásolta volna a következtetéseket az ilyen fajta elemzés?

2, *A génexpressziós vizsgálatokkal kapcsolatos kérdés:*

A glikozilációs mintázat molekuláris mechanizmusainak vizsgálata során több alkalommal is végzett génexpressziós analízist, azonban a génexpressziós változások elemzését és bemutatását nem egységes módon végezte. Egyes esetekben a referenciaként használt gén expressziójából levonta a vizsgált gén expresszióját (21., 22. ábrák), míg a más esetekben hányadosokat számolt (14., 24. ábrák). Mi volt a különböző számítási mód oka?

A 21., 22. ábrák esetében rendkívül kis különbségek szerepelnek az ábrákon, van ahol talán csak 1-2 amplifikációs ciklusszám a különbség a mediánok között, ami igen precízen standardizált és ellenőrzött kísérleti körülményeket feltételez. Milyen, az RNS expressziós analízis megbízhatóságával kapcsolatos minőségi kontrollokat építettek be a sorozatban, primer beteganyagon, hosszú idő alatt végzett kísérletek összehasonlíthatóságának érdekében? Előfordult, hogy egyes RNS expressziós eredményeket nem tudtak figyelembe venni minőségi szempontok miatt?

3, *A T-sejtek izolálásával kapcsolatos kérdés*

A T-sejtek izolálását és aktiválását több kísérletnél is alkalmazta, protokollját többször le is írja a dolgozatban. Minden ilyen leírás perifériás mononukleáris sejtek izolálását, 72 órás kultúrában való aktiválását (PHA-nal), majd további tisztítás vagy jelölés nélküli felhasználását mutatja be. Mit gondol, jelen lehetett-e a szortolás- vagy jelölés majd kapuzás nélkül felhasznált sejtpopulációkban olyan szennyezés (pl. B-limfociták, NK sejtek), ami befolyásolhatta génexpressziós vagy lektinkötési eredményeit? Végeztek az ilyen - lehetséges sejtszennyezéssel kapcsolatos - ellenőrzési vagy beállítási kísérleteket?

További észrevételek

- A 66. oldalon mesenchymalis őssejtek felhasználásáról ír, azonban a dolgozatban nem találtam leírást ezen sejtek eredetével kapcsolatban.
- A 16. ábra "A" panelje a galektin-1 fehérje expresszióját mutatja be Western-blot analízissel. A képen kivágott gél darabokat látunk molekuláris markerek nélkül. Ez a fajta bemutatás nem méltó egy doktori dolgozathoz.

Új megállapítások

A fenti kérdésekre adott válaszoktól függetlenül a jelölt új tudományos eredményeinek fogadom el a következőket:

- Új módszer kifejlesztésével majd továbbfejlesztésével igazolta az m3 acetylcolin receptorral reagáló autoantitestek jelenlétét Sjögren szindrómás betegek vérében, bemutatta ezen autoantitestek klinikai jelentőségét és értékes morfológiai-immunhisztokémiai vizsgálatokkal tárta fel egyes patogenetikai tulajdonságaikat.
- Igazolta a galektin-1 expresszió változásának kapcsolatát az SLE klinikai stádiumaival, valamint a Gal-1 lényeges szabályozó szerepét a betegek T-sejtjeinek működésében. A klinikai megfigyelések jelentőségét az adja, hogy további sejtbiológiai, immunológiai és lektin-kötési vizsgálatokkal részletesen fel is tárta a glikoziláció változását SLE-ben, valamint ennek hatásait a T-limfociták működésének egyes jelenségeire.
- Értékes klinikai megfigyeléseket (kísérőbetegségek, endo-fenotípusok) között az antifoszfolipid szindrómával társuló-, és azzal nem társuló SLE klinikumával kapcsolatban.
- Feldogozta 175, biológiai terápiában részesülő, ízületi megbetegedésben szenvedő páciens kórtörténetét a biológiai terápia leállítását követően, és azonosított a leállítást követő relapsussal összefüggést mutató egyes paramétereket (pl. a remisszió hossza, és a betegség aktivitása leállításkor).

Összefoglalás, javaslat

Tekintettel arra, hogy jelölt sikeres klinikai munkacsoport tagjaként végzett klinikai kutatómunkát az elmúlt években, korábbi tudományos fokozata megszerzése óta végzett önálló munkássága magas színvonalú és kellően bizonyított, valamint a fent felsorolt pontok vonatkozásában új, hiteles és eredeti tudományos megfigyelésekkel járult hozzá a Sjögren szindrómával és az SLE-vel kapcsolatos klinikai kutatásokhoz, javaslom az értekezés nyilvános vitára tűzését, és sikeres védés esetén részére az *MTA doktora* cím odaítélését.

Prohászka Zoltán

Budapest, 2021-05-11

MTA doktora

Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Hematológiai Klinika, Kutatólaboratórium

Tel.: (1)-3551122/7379 vagy 06-20-8250962 FAX: (1)-2129351

e-mail: prohaszka.zoltan@med.semmelweis-univ.hu