

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

Dr. Kovács László a Szegedi Tudományegyetemen végzett, és kezdte el kutatói munkáját.

Szoros munkakapcsolatban volt és van a Szegedi Biológiai Központtal, a pécsi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézettel, ahol a labormetodikai munkákat sajátította el. Nemzetközi kapcsolatokat ápol a kanadai és washingtoni Intézet munkatársaival, a szegedi Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika laboratóriumával, és számos más budapesti, debreceni tanszékkel, a területi reumatológiai intézményekkel, ahol a klinikai társszakmák kooperációs munkáiban vesz részt.

Doktori értekezésében az immunológiai-reumatológiai betegségekkel kapcsolatos szerteágazó kutatómunkájáról számol be. A dolgozat sokszínű, és szépen dokumentálja a jelölt kutatói pályáját.

A témaválasztása is jelzi, hogy folytatta elődje, Dr. Pokorny Gyula munkáját a Sjögren szindróma patogenezisének pontosabb megismerésére. A reumatológiai és az immunológiai betegségek színes palettáján belül a Sjögren szindróma mellett a Szisztémás Lupus Erythematosus (SLE), a Rheumatoid Arthritis (RA), az Ankyloizáló Spondylitisben (AS) szerepet játszó immunológiai faktorok pontosabb megismerése a munka célja, és azok az új terápiás lehetőségek, amelyek a szakemberek számára is segítenek megérteni és megismerni az immun-reumatológiai betegségek lényegét, és az új megfigyelések értékelését.

A munka témaválasztása jó, olyan tényezőket vizsgál, amelyek előterében a még nem ismert immunológiai mechanizmusok állnak Sjögren szindrómában, SLE-ben a T sejt aktivációt kiváltó mechanizmusok, a kórlefolást módosító immunológiai tényezők, az újonnan alkalmazható terápia lehetőségei, és annak idejekorán való megszüntetése a vizsgálati célja.

A dolgozat stílusa olvasmányos, érthető, világos. A munkából kitűnik, hogy a szerző a laboratóriumi metodikában jártas, és több évtizedes klinikai tapasztalata van, hogy megismertessen az immunológiai-reumatológiai betegségekkel, és annak megértésével.

Általános bírálat

Formai szempontok

Az értekezés formai szempontból megfelel a doktori művekkel szemben támasztott követelményeknek. A szerző világosan, tagolt fejezetekben írja az irodalmi „Előzményeket” (11 oldal), a konkrét „Célkitűzéseket”, majd a részletes részben a „a Betegek és Módszereket” (19 oldal), az „Eredményeket” 47 oldalon, ami tartalmazza az Ábrákat és Táblázatokat, a „Megbeszélést” (10 oldal), melyek szakaszosan követik egymást. Dolgozatát az új megállapítások felsorolása, az eredmények lehetséges gyakorlati alkalmazásának részletezése, és a köszönetnyilvánítás zárja.

Scientometriai szempontok:

A munka magyar nyelven 95 számozott oldalon készült el, mely 12 Táblázatot és 25 Ábrát tartalmaz. A 268 irodalmi hivatkozás nem tartalmazza a saját eredményeit, ennek értékelésére a doktori műben került sor. A munkát a saját publikációs felsorolása zárja. A szerzőnek 82 tudományos és oktatási közleménye van, a független hivatkozások száma 1260. A tudományos fokozat, 2004-ben a PhD elnyerése után 59 közleménye van. A 2010 és 2020 között megjelent lektorált tudományos cikkeinek száma 53, ami a szerző tudományos aktivitását és vezetésre alkalmasságát bizonyítja. A Hirsch index is meghaladja a reumatológia terén szükséges értéket.

Részletes bírálat, kérdések

1. Az anti-m3AChR antitesttel végzett vizsgálatokkal kapcsolatban

4. Ábrán (41. oldal) a kétféle antigén, a szintetikus KRSE és a rekombináns fúziós GST-KRSE peptid alkalmazásával kapott 492 nm-en mért OD értékeket mutatja. A 4. D. Ábrán a GST-KRSE ELISA vizsgálatkor a 0,4-nél nagyobb és a 0,4-0,3 OD tartományban levő esetek számát mutatja be. A 0,4-0,3 OD tartományban levő betegszám alacsonyabb volt, mint a 0,4-nél nagyobb OD értékű immunreakciót adó betegek száma. Mi magyarázza, hogy az antitest szintek értékei eltértek a két csoportban? Az alacsonyabb OD tartományban levő betegek tünetei enyhébbek voltak vagy kevesebb szervi eltérésük volt?

6. Táblázatban (47. oldal) az anti-m3AChR antitest pozitív SS-s betegekben nem szignifikánsan ugyan, de magasabb volt az extraglandularis tünetek száma, de szignifikáns összefüggést az anti-m3AChR antitest és a leukopenia között találtak. Mivel magyarázható a leukopenia és az anti-m3AChR antitest közötti összefüggés?

50. oldalon a szerző írja, hogy az „SS betegekből tisztított anti-m3AChR monospecifikus ellenanyag kötődik az egészséges nyálmirigy acinus sejthez, másrészt az SS betegek nyálmirigyében in vivo IgG osztályú antitestek kötődnek a nyálmirigyhez”.

Kérdésem: más típusú autoimmun kórképekben, amelyek Sjögren szindrómával társulnak, így SLE-Sjögrenben, RA-Sjögren-ben szenvedő betegből nyert, és tisztított ellenanyag is képes-e kötődni az acinus sejthez? Vagyis az ellenanyagkötődés mennyiben specifikus SS-re?

13. Ábrán (58. oldal) az RA-s betegekben lényegesen alacsonyabb a szintetikus (KRSE) és a GST fúziós fehérjékkel kapott anti-m3AChR antitest immunreaktivitása, és az anti-m3AChR antitest előfordulása, mint pSS-ben vagy SLE-ben. Mi ennek a magyarázata?

Megjegyzésem:

58. oldal. A 13. Ábrán az anti-m3AChR antitest pozitivitás gyakoriságának a bemutatását a talán érdekesebb lett volna kicsit lazábbá tenni a szintetikus peptidok és a GST-fúziós peptidok között, a jobb áttekinthetőség miatt.

2.A klinikai képet alakító patogenetikai eltérések vizsgálata SLE-ben.

14. B Ábra (62. oldal). Aktív betegség idején az SLE-s aktivált T sejtek kevésbé reagáltak a Gal1 apoptotikus hatására, míg az apoptózis érzékenysége az SLE nyugalmi szakában helyreállt.

Kérdésem: a lupusos egérmódelhez hasonlóan a T sejtek szializáltsági állapota az SLE-s betegekben mutatott-e összefüggést a magasabb aktivitással, például a lupus nephritissel? CD45 felszíni expressziójának változása adhat-e magyarázatot arra, hogy a T sejtek apoptózis érzékenysége megváltozik az SLE aktív és nyugalmi szakában?

66. oldal. A Gal-1 számos szövetből szabadul fel. Az SLE-s, RA-s betegek szérumában szolubilis Gal-1-et mutattak ki, és megnőtt a Gal-1 ellen termelődött antitestek mennyisége is.

Kérdésem: van-e bizonyíték arra, hogy az SLE-s betegek szérumában szolubilis Gal-1 van jelen? A szérum Gal-1/anti-Gal-1 komplexek szerepet játszanak-e és befolyásolják a betegség aktív- inaktív szakában a lektinek immunmodulátor hatását?

75. oldalon a TMEM203 szerepének vizsgálatával kapcsolatos kérdés: a vizsgált SLE-s betegekben miért volt alacsony a STING mRNS génexpressziója?

MAVS- mRNS expresszióját igen alacsonynak vagy mérhetetlennek találták. Miért nem mutatható ki SLE-ben MAVS mRNS szint? Oka lehet az, hogy a MAVS antivirális mitochondriális szignál protein, és inkább vírusfertőzésben aktiválódik az IRF3 termelődés?

3.Az antifoszfolipid antitestek szerepe az SLE nem-thromboemboliás mechanizmusú szervi manifesztációinak kialakulásában.

77. oldal. Az SLE-ben az antifoszfolipid antitestek jelenléte megnövelheti az újabb thrombotikus vagy szülészeti komplikációk valószínűségét. A 11. Táblázatban az SLE-antifoszfolipid antitest pozitív 52 betegből hány esetben fordult elő kettős vagy hármas antifoszfolipid antitest pozitivitás?

9. Táblázat, 80. oldal. Az SLE-antifoszfolipid antitest pozitív csoportban hány beteg kapott tartósan alvadásgátló kezelést?

Megjegyzésem: Érdeemes lett volna leírni a teljes beteganyag bemutatásakor, hogy összesen 52 SLE-s betegben volt thrombotikus történéis (SLE+APS) és 172 SLE-s betegben nem volt antifoszfolipid antitest. Ez összesen 224 SLE-s beteg, ami igen jelentős betegszám.

4.A biológiai terápia leépítésével kapcsolatos kérdéseim

1. (83. oldal) A 38 Ankylotizáló Spondylitises (AS) betegben az átlagos 20 hónapos utánkövetés után is magas maradt az aktivitás. A Salazopyrin mellett mennyi napi dózissal corticosteroid kezeléssel kellett pótolni a kezelést?

Megjegyzés: Újabb terápiás targetet keresve AS-ben az IL23/IL17 tengely bizonyult célpontnak a betegség patogenezisében. 2016-ban már alkalmazták az AS progresszió gátlására az IL12/IL23 gátló usztekinumab kezelést. Kérdésem, a tartósan aktív AS-es betegek kezelésében próbálkoztak-e az IL12/23 usztekinumab monoklonális antitest adásával?

2. A biológiai terápia tartama az egyes betegcsoportokban maximum 39 és 60 hónap között volt. A 175 kiindulási RA-s, AS, arthritis psoriatica (AP) betegben 21 tumort találtak. Ez nagyon magas érték. Kérdésem: paraneoplasziás szindróma állhatott-e a magas értékek hátterében? Milyen típusú tumorok fordultak elő a biológiai kezelés során?

Megjegyzés: 12. Táblázatban a betegség aktivitás leállításakor feltünteti az átlagos aktivitási indexet (DAS28, BASDAI). A leállítás idején az alacsony, közepes, magas aktivitással rendelkező betegeknél nincs jelezve az aktivitási index.

Megjegyzés: A 12. táblázatban az bal első oszlopban hiányzik a leállítás idején az alacsony, közepes, magas betegség aktivitással rendelkező betegek arányában a %-os jelölés.

A fenti kérdések és megjegyzések nem befolyásolják az új tudományos eredmények értékeit.

Az új tudományos megállapításokat foglaltam össze:

- Primer Sjögren szindrómás betegek szérumában a humán anti-m3AChR-el reagáló antitestek vannak jelen, ami magas szenzitivitású és specificitású a primer Sjögren szindrómás betegekre.
- A primer Sjögren szindrómás betegek anti-m3AChR antitestjei a humán nyálmirigyek epithel sejtjeihez kötődnek az acethylcholin receptornak megfelelő lokalizációban.
- Az anti-m3AChR antitestek SLE-s és RA-s beteg szérumában is jelen vannak, de SLE-ben és RA-ban kialakuló sicca tünetcsoport jelenlétével az anti-m3AChR pozitivitás nem mutatott összefüggést.
- A Galectin-1 (Gal-1) csökkent mRNS expressziót mutat SLE-s betegek aktivált lymphocytáiban, és a betegség nyugalmi szakában normalizálódik.

- Eredményeik alapján kapcsolatot találtak az aktivált T lymphocyták endogén Gal-1 termelése és az exogén Gal-1-re adott apoptotikus reakció között. A de novo expresszált intracellularis Gal-1 hiánya rezisztenssé teszi a sejteket az extracellularis Gal-1-el szemben.
- Vizsgálatai alapján megállapították, hogy a sejtfelszíni glikánok terminális szialsav komponensének mennyiségét szabályozó enzimek közül a szializáló enzimek túlsúlyban vannak SLE-ben. A neuraminidáz kezelést követően az SLE-s aktivált T sejtek Gal-1 kötő képessége nőtt, ami arra utal, hogy a T lymphocyták fokozott sejtfelszíni szializációja gátolja a Gal-1 kötődét SLE-ben.
- A TMEM203 enzim jelentőségét bizonyították az I. típusú Interferonok indukciójában az aktivált T lymphocytákban.
- SLE-antifoszfolipid szindróma társulásakor nem thrombotikus mechanizmusú szervi manifesztációk is megjelennek SLE-ben.
- RA-ban a biológiai terápia leállításakor a betegek jelentős része remisszióban maradt. Az Ankyloizáló Spondylitises betegekben közel felében aktiválódott a betegség, és a TNF-alpha kezelés újraindítása nem bizonyult hatásosnak.

Összegezve:

A jelölt munkacsoportjával a 2004-ben megszerzett doktori fokozata óta sikeres önálló kísérletes és klinikai kutatómunkát végzett az elmúlt két évtizedben. A munka önállóan végzett, és munkássága alapján javaslom az értekezés nyilvános vitára tűzését és sikeres védelem esetén a MTA doktora cím megítélését.

Debrecen, 2021. 03. 22.

Dr. Bodolay Edit

MTA doktora

Debreceni Egyetem Általános
Orvostudományi Kar

Klinikai Immunológiai Tanszék

Tel: 06-52/255-480 FAX: 06-52/255-219

e-mail: edit.bodolay@gmail.com

Betűcsere

7. o.	azosították	azonosították
8. o.	inteferon	interferon
8. o.	citrullinált	citrullinált
10. o.	SS-benléteznek	SS-ben léteznek
12.o.	aTreg	a Treg
13.o..	estében	esetében
16.o.	gyűjtsünka	gyűjtsünk a
16. o.	arthrits	arthritis
19.o.	m3AchR	m3AChR
20. o.	ani-humán	anti-humán
21. o.	rekciót	reakciót
21. o.	mértkben	mértékben
27. o.	luykú	lyukú
29. o.	sejtket	sejteket
38. o. -50. o	m3AchR	m3AChR egységes rövidítés
52. o.	lokallizáció	lokalizáció
63. o.	repreentatív	reprezentatív
64. o.	mutatot	mutatott
65.o.22.Ábra	neuraminidáz-1	neuraminidáz-1
84-86.o, 94.o.	m3AchR	m3AChR