

Bodó Imre**„Veleszületett és szerzett ritka hemosztázis betegségek patogenetikájának vizsgálata, diagnosztikájának és terápiájának fejlesztése”**

című doktori munkájáról.

Háttér

Ereinkben a különböző sebességgel, akadálytalanul áramló vérünk speciálisan fejlődött, magas fokon differenciálódott, folyékony kötőszövet. A vér celluláris és humorális elemeinek szuszpenziója valamint érrendszerünk és endotél sejtjeinek kölcsönhatása szervezetünk dinamikus állandóságát különböző áramlási erők hatása alatt biztosítja. Az érfal sérülésekor az életet védő hemosztatikus mechanizmus a vérzés és a trombusképződés egyensúlyát fenntartva biztosítja a fiziológiás alvadék képződését és lebontását—A trombociták vagy a koagulációs faktorok hiánya, csökkent működése, a folyamat elégtelen szabályozottsága vérzéshez vezethet, míg többlete, illetve a folyamat nem megfelelő helyen és időben történő aktiválódása érelzáródást, szerveink azonnali károsodását okozhatja. Nagy áramlási erők hatása alatt a trombociták sérült érfalhoz való tapadását humorális kofaktorok, a von Willebrand faktor (VWF) közvetíti. A kb. 240 kDa tömegű monomert kb 20% N- és O-glikozil csoport, 2050 aminosav, köztük 8,3% cisztein alkotja. A dimerekből összekapcsolódott VWF különböző hosszúságú multimerek formájában van jelen a keringésben.

A VWF-ral diákkörösként találkozott először a jelölt, Péterfy Miklós mellett. Klinikai orvosi gyakorlatai alatt immunológiai és mikrobiológia kutatási gyakorlatra is szert tett Gergely Péter vezetésével. 1997-től Saint Louisi Washington Egyetemen hematológia-onkológiai ösztöndíjasként kapcsolódhatott a von Willebrand betegség (VWB) patomechanizmusának kutatásába a nemzetközi thrombosis és haemostasis kutatás területén kiemelkedő Evan Sadler csoportjában. Innen ered és bontakozik ki a jelölt akadémiai doktori munkája, kiemelkedő nemzetközi munkacsoportokkal kollaborálva.

A doktori munka formai értékelése

Bevezetés 15-, Célkitűzések 4-, Betegek módszerek 27-, Eredmények és következtetések 145 oldal, 47 táblázattal, 53 ábrával. Hivatkozott irodalom 420.

A dolgozat alapjául a jelölt 25 közleménye szolgál (6 első-, 7 utolsó- és 12 társszerzős), amelyek 1999-2023 között jelentek meg (*IF:117; Idézet:703 (független:573)*). A témával összefügg 12 közlemény és 4 könyvfejezet, amelyek 1986-2023 között jelentek meg (*IF:53; Idézet:214 (független:206)*). A témával nem függ össze 9 (*IF:30; Idézet:151 (független:137)*).

A mű írásmódja könnyed, magával ragadó, nem zavaró, de néhány szakmai kifejezés ezzel pontatlanná válik. A dolgozat szerkezete logikus, jók az ábrák és táblázatok, azok szövegei, a magyar fordítása megfelelő.

Tartalmi értékelés és kritikai megjegyzéseim

A dolgozat tengelye a VWF, amely a ritka vérzékenység és a súlyos trombotikus betegségek, valamint az igen gyakori tromboembóliás események főszereplője. A jelölt mintegy negyed évszázados munkája ennek a faktornak betegséget okozó molekuláris biológiai részleteitől a laboratóriumi diagnosztikán át, a patomechanizmusok feltárásával, és terápiás

lehetőségekkel foglalkozik, új ismereteket, összefüggéseket tár fel, miközben több ismeretlent is elénk tár.

A BEVEZETÉS, HÁTTÉR fejezet alaposan és tömören vezeti be a munkát. Ehhez a részhez *Megjegyzem, hogy:*

(1.) *érdemes megemlíteni azt az 1957-es cikket az első VWB kezeléséről (Nilsson IM, DOI: 10.1111/j.0954-6820.1957.tb00123.x,) mellyel Inga Marie Nilsson és munkatársai sok beteg megmentésére mutatott utat.*

(2) *a VWF nem csak stabilizálja a FVIII-t, hanem biztosítja annak szállítását a keringő vérben/ből az aktivált trombociták felszínén zajló koagulációs kaszkádkhoz.*

(3) *ma már biztosan mondhatjuk, hogy a A1-A3 hurok domének feltárulása áramlási erők által szabályozott. Munkacsoportunk mostanában közölte, hogy az erők hatása a hosszabb multimereken jobban érvényesül (<https://doi.org/10.1002/pro.4535>).*

A tromboemboliás betegségek fejezet részletes, *de Megjegyzem (4) lehet jobb lett volna kihagyni, vagy itt bemutatni a VWF szerepét is a mai irodalom szerint, kiindulva Sadler 2005-ös cikkétől: von Willebrand factor two sides of the coin* Az autoimmun (immun-mediált) trombotikus trombocitopéniás purpura bemutatásánál *javaslom (5) Prohászka Zoltán <https://doi.org/10.1182/blood.2019004221> cikkét idézni.*

CÉLKITŰZÉSEit, amelyek a múltban/ből fogalmazódtak, két nagy részre, a von Willebrand betegséggel és a tromboemboliás betegségekkel kapcsolatos vizsgálatokra, összesen 18 pontra és részkérdésekre osztva jól követhetővé teszi. Ezek mentén haladnak a dolgozat további részei is, így tartalmi szempontból később állapítható meg, hogy mindegyik célkitűzését teljesítette.

A BETEGEK ÉS MÓDSZEREK fejezet nagyon sok módszert ismertet, jelezve a jelölt nagy jártasságát a kutatás és orvoslás területén egyaránt. Könnyebbé tette volna az olvasó helyzetét a követelményeknek megfelelő, részletekbe menő magyar fordítás helyett az eredeti publikációra, több helyen való hivatkozás.

Megjegyzéseim:

az 53. oldalon néhány hivatkozott honlap már nem működik, „a szalag modell rajzokat a MOLSRICPT programban hoztuk létre” mondathoz tartozó idézet a módszerről nem szól, csak megnevezi, mint alkalmazott módszert;

A CK domén felépítésének molekuláris modellezése részben nem egyértelmű, hogy két monomer közötti diszulfid hidakról vagy monomeren belüli hurok doménekről is van szó.

Az EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK fejezet a célkitűzéseknek megfelelő tagolásban és jól szerkesztett ábrákkal jól követhető, bár nagyon tömény. Az olvasó figyelmét irányítja és oldja a fejezet töménységét a fejetek előtti rövid bevezető, összefoglalva a korábban részletesen kifejtett háttérrel. Nagyra értékelem azt a nemzetközi összefogást, amelyben a sok betegre vonatkozó, pontos laboratóriumi és genetikai vizsgálatok megvalósulhattak. A VWB-gel kapcsolatos vizsgálatok bemutatása a VWF bioszintézis lépéseinek sorrendjében (transzláció, elsődleges VWF fehérje dimerizáció az ER-ban, multimerizáció a Golgiban, szekréció és kiválasztódás a plazmából) jó logikai sorrend.

Vérzéses tünetek és propeptid szintek a 3-as típusú von Willebrand betegségben részben összeveti az 1-es és 3-as VWB fenotípusokat.

Kérdezem, hogy

(1) *bár kimagaslóan nagy esetszámmal dolgoztak, pl központi idegrendszeri vérzés esetén négy 3-as típusú VWB betegre „a vérzés esélye még így is több, mint 20-szorosan meghaladja*

az 1-es típusú betegekben talált kockázatot (7. ábra, B)” mennyire lehet biztosan állítani? Az adatok szórása is annyira nagy, hogy ezt az eredményt kritikával kell fogadni (59. oldal)

(2) a 3WINTERS-IPS vizsgálat eredményei a 3-as típusú VWB estén a nagyon alacsony VWF szint védő hatása miatti alacsony FVIII szint hatásait mutatják?

(3) utalhat a magyarországi 3-as típusú betegek genetikai eredménye a magyarok eredetének különbözőségére az értékelésben említett publikációk beteginek eredetéhez viszonyítva?

(4) a 8. táblázat vérszámotatóinak elemzése a viszonylag homogén betegpopulációban klinikai vérszámotató fenotípusát igen heterogénnek találta. Lehetséges-e, hogy a változatosság kialakításában nem ismeretlen módosító gének hatása, hanem más reológiai háttér feltételezhető?

A VWF bioszintézissel inkompatibilis génhibák: a 3-as típusú von Willebrand kór molekuláris patogenezeise. A „magyar mutáció” keletkezése és az inhibitor képződés kérdése nagy munka volt, sok új módszerrel, ami a VWB több típusa molekuláris patogenezeisének feltárásához is hozzájárult.

A VWF dimer diszulfidjainak- és a monomerek C terminálison való vég-vég dimerizációjának feltárására irányuló, 2000-ben a JBC-ben megjelent munka nagy és izgalmas kísérletsorozat volt és biztos alapot szolgáltatott a Springer munkacsoport 2014-es eredményéhez, amely igazolta a feltételezett három diszulfid híd kapcsolódást.

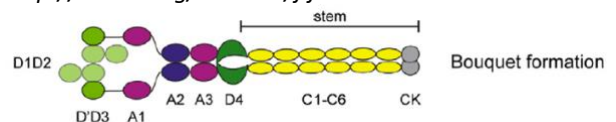
A nagy penetranciájú súlyos 1-es típusú VWB-ként azonosított csoport genetikai és funkcionális vizsgálata nagy munka és izgalmas felfedezés volt, amely a VWF szintézisének zavarára és az ER-ben történő ellenőrző funkció felismerésére vezető, p.C1149R mutáció patogenezeisének tárta fel. 2001-ben megérdemelten fogadta a Blood közlésre.

A VWF clearance jelentőségét a Vicenza variáns molekuláris patogenezeisének feltárásán át mutatja be a jelölt a szintén súlyos 1-es típusú VWB patomechanizmusában. Itt a VWF genetikai hiba okozta clearance zavara mutatható ki a betegnek DDAVP indukált endogén és exogén VWF eltávolításának vizsgálata alapján, matematikai modellt is alkalmazva. (2010 Gézi JTH) Matematikai modellezés segítségével sikerült kialakítani azt a koncepciót, amely megmagyarázza a R1205H-VWF biológiai viselkedését. Szimulációs kísérleteik szerint a VWF felezési idejét a normál tizedrészére csökkentve a Vicenza VWB fenotípus reprodukálható (alacsony VWF szint, UL-VWF multimerek jelenléte, csökkent intenzitású szatellita sávok) akkor is, ha model más paraméterét nem változtatták. A kísérletek és szimulációk egy újfajta dinamikus szemlélet kialakulásához vezettek, amely figyelembe veszi a VWF szintézis, hasítás és bontás/ eltávolítás összjátékát.

Kérdésem, arra vonatkozóan, hogy „valamennyi mutáció, amelyről eddig leírták, hogy a VWF clearance gyorsulásával jár, a D3 és D4 doménben található”, kapcsolatban van-e azzal, hogy a D3 domének után lévő D' domének N-terminális kapcsolódása hozza létre a dimerek multimerré kapcsolódását, a D4 domén pedig éppen a dimer

csokor száraának a végén van, ami azt összetartja (dimeric bouquet formation).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbior.2016.09.010>



A VWF trombocita-függő aktivitási tesztjeinek (2015 Bodó SSC JTH) nevezéktana, és a GPIb kötő VWF aktivitási tesztek objektív összehasonlítása során észlelt egymástól eltérő eredmények (2018, 2020 Szederjesi) bizonyos típusú minták esetében azt mutatják, hogy az új VWF aktivitás tesztek általában jól korrelálnak egymással és a VWF:RCo teszttel, de bizonyos mutációk esetében a valós értékek jelentős különbségeket mutatnak, amit az eredmények értelmezésénél figyelembe kell venni. Munkájuk erőssége, hogy csak

molekulárisan jellemzett, főleg 1-es és 2-es típusú VWB betegeket vontak be ezekbe a vizsgálatokba, akik között nagy számban voltak ismétlődő mutációk.

VWB kezelési elvei (2014 Favalaro), autoimmun szerzett hemofília A kezelése: hatékony immunszuppresszív kezelési protokoll kidolgozása (2022 Simon Blood) fejezethez

Trombofília kivizsgálás klinikai haszna vénás tromboembóliában szenvedő betegekből (2020 Gaddh) nem javasolt, amivel egyetértek.

Trombózishajlam szisztémás lupus erythematosusban szenvedő betegekből (2007 Sallai) részhez *javasolnám a VWF és a FVIII jelentőségét vizsgálni*

A jelölt klinikai munkájának a kutató orvos szintjét mutatják a következő fejezetek: A Jatrogén trombofília – az aszparagináz okozta trombózis kezelése (2015 Plander); A PNH az agresszív trombofíliák jellegzetes példája (2023 Bodó, 2020 Bodó, 2016 Horányi, 2021 Bodó); A rituximab a folyamatos plazmaferézis mellett is a keringő CD20+ T- és B-sejtek korai eltávolításához vezet (2020 Carden).

Összefoglalva, az Eredmények és Következtetések itt méltatott részei nemzetközi szinten is új alap- és klinikai kutatási eredmények, amelyeknek diagnosztikai és klinikai haszna jelentős.

A doktori munka tudományos eredményeit bőven elegendőnek tartom az MTA doktora cím megszerzéséhez és a nyilvános védés kitűzését javaslom.

Dátum: 2024. 10. 08.

Hársfalvi Jolán
az MTA Orvosi Osztályának doktora
mb. tudományos tanácsadó,
Semmelweis Egyetem,
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet