

OPPONENSI VÉLEMÉNY

Dr. Majoros László

**Antifungális szerek *in vitro* és *in vivo* hatékonyságának a vizsgálata *Candida* fajok ellen
című**

MTA doktori értekezéséről

Dr. Majoros László MTA doktori értekezése egy hosszabb időszakon át következetesen végzett kutatómunka eredményeit foglalja össze. A dolgozat középpontjában az invazív candidiasisok kezelésében meghatározó jelentőségű antifungális szerek, elsősorban az echinocandinok *in vitro* hatásvizsgálata áll, a legtöbb esetben kitekintéssel az eredmények *in vivo* vonatkozásaira is. A választott téma klinikai szempontból egyértelműen nagyon fontos, hiszen az invazív gombafertőzések között továbbra is a *Candida* fajok okozta megbetegedések a leggyakoribbak, és ezek kimenetele még a korszerű terápiás lehetőségek mellett is gyakran kedvezőtlen. A jelölt disszertációjában, illetve a téziszüzetben is hangsúlyozza, hogy e fertőzésekhez továbbra is jelentős mortalitás társul, ami önmagában is indokolja a dózis-hatás összefüggések és a terápiás hatékonyságot befolyásoló tényezők részletes vizsgálatát. A dolgozat ennek megfelelően nem pusztán egy szűkebb kísérletes kérdésre koncentrálna, hanem olyan problémakört tárgyal, amelynek eredményei a klinikai gyakorlat számára is kiemelten fontosak.

Az értekezés szerkezete megfelel az MTA doktori disszertációkkal szemben általában elvárt formai és tartalmi követelményeknek. A 172 oldalas dolgozat felépítése logikus, jól tagolt: az irodalmi áttekintést a célkitűzések, majd az anyagok és módszerek, az eredmények, illetve a megbeszélés fejezetei követik, ezt külön egységben az irodalomjegyzék, valamint a publikációs és tudománymetriai összesítés zárja. A dolgozat megértését és áttekinthetőségét a megfelelő illusztrációs anyag is segíti: a kézirat 39 ábrát és 23 táblázatot tartalmaz. Ezek különösen hasznosak, mert nemcsak szemléltetik, hanem több esetben érdemben segítik is az adatok értelmezését, ami a szövegben megjelenő nagy adattömeg miatt nem könnyű.

A jelölt publikációs teljesítménye a téziszüzetben közölt adatok alapján jelentős. Az értekezés alapját 14 *in extenso*, referált tudományos közlemény képezi, amelyek összesített hatás tényezője (impakt faktora) 51,201. Ez a teljesítmény figyelemre méltó és jól mutatja, hogy a dolgozat mögött hosszabb időn át következetesen végzett, eredményes kutatómunka áll. Az idézettségi adatok, a Hirsch-index és a szerzőségi megoszlás együttesen arra utalnak, hogy nem elszigetelt közleményekről, hanem egy koherens, folyamatosan felépített kutatási tevékenységről van szó.

Külön érdemként emelhető ki, hogy a dolgozat alapjául szolgáló kutatások egy része egyértelműen transzlációs szemléletet képvisel. A szérumhatás vizsgálata, az ölési ráta és az *in vivo* kimenetek közötti összefüggések elemzése, valamint a neutropéniás egérmodell alkalmazása azt mutatja, hogy a jelölt az *in vitro* megfigyelések gyakorlati jelentőségét következetesen igyekezett feltárni. Ez a megközelítés az antifungális farmakodinámiai vizsgálatok esetében különösen fontos, mivel az *in vitro* eredmények klinikai értelmezhetősége (amit a dolgozatban a jelölt is többször hangsúlyoz) sok esetben csak korlátozott. A dolgozat egyik lényeges erőssége éppen az, hogy mindig törekszik a laboratóriumi kísérleti eredmények lehetséges klinikai jelentőségének, használhatóságának tisztázására.

Formai megjegyzések

A dolgozat formai szempontból igényesen összeállított munka. A szakirodalmi hivatkozások száma megfelelő, és az irodalom feldolgozása meggyőző. Elírást, gépelési vagy kisebb szerkesztési hibát nagyon kevés helyen találtam. Ezek közül számomra egyedül a dolgozat címében szereplő felesleges névelő („a”) volt zavaró. Az összes többi, elvéve előforduló hiba (pl. helyenként a fajnevek dőlt szedésének hiánya vagy következtelen használata, a százalékjelölésnél tapasztalható ingadozás, pl. „100 %-os”, valamint néhány gépelési hiba) elhanyagolható jelentőségű.

A fentiekén kívül még két, részben szerkesztési jellegű megjegyzést tennék. Az egyikre már utaltam: az értekezésre jellemző, hogy a folyószövegben igen nagy sűrűséggel szerepelnek izolátum- és törzskódok, koncentrációértékek, százalékok és egyéb részletes számsorok. Ez a munka alaposságát jól tükrözi, ugyanakkor a leírtak érdemi követését helyenként nehezzé teszi. Meglehet, hogy néhány további összegző táblázat vagy áttekintő ábra még tovább javíthatna volna a leírtak követhetőségét.

Jól érzékelhető az is, hogy a jelölt küzdött azzal, hogy tudományos munkájának ismertetését – szerteágazó kísérleti munkáról és igen nagy adattömegről van szó – beszorítsa az elvárt terjedelmi korlátok közé. Gondolom, ezért is születtek olyan fejezetcímek, mint az „5.4.4. Szervtenyésztés”, ami önmagában ugyan figyelemfelkeltő, valójában azonban a kísérleti állatok szerveiből kitenyésztethető gombok vizsgálatáról van szó.

Mindezek azonban valóban csekély jelentőségűek, és nem olyan jellegű hibák, amelyek a dolgozat érdemi megítélését befolyásolnák.

A disszertáció tartalmi értékelése

Irodalmi háttér

Az irodalmi háttér megfelelő terjedelemben és kellő részletességgel tárgyalja az invazív *Candida* fertőzések epidemiológiáját, a terápiás lehetőségeket, valamint az echinocandinok klinikai hatékonyságát befolyásoló és korlátozó tényezőket. A paradox növekedés, a trailing jelenség, a szérumhatás, a fehérjekötődés és az *FKS* mutációk ismertetése jól illeszkedik a dolgozat fő kérdéseire. Külön pozitívum, hogy a jelölt nemcsak az egyes szerek *in vitro* aktivitását tekinti át, hanem ezek értelmezési korlátaira és klinikai jelentőségére is kitér. Ez a szemlélet jól előkészíti a saját eredményeket bemutató fejezeteket is.

Megjegyzésként ide kívánczik, hogy a jelölt deklarálta a klinikai gyakorlatban megszokott, régebbi nevezéktant használja. Ez teljes mértékben érthető és elfogadható, ugyanakkor a dolgozat elején hasznos lett volna legalább röviden utalni a jelenleg elfogadott taxonómiai megfeleltetésekre is.

Célkitűzések

A célkitűzések szakmailag indokoltak és jól megfogalmazottak. A tézisfüzetben 10 pontban ismertetett feladatok széles spektrumot fednek le: a posakonazol *in vitro* hatásának részletes jellemzésétől a rezafungin és más antifungális szerek MIC-alapú összevetésén át a paradox növekedés és az ölési aktivitás elemzéséig, továbbá a nikkomycin Z és a szérumhatás vizsgálataig, valamint az *in vitro* és *in vivo* eredmények összerendeléséig. Ezen túlmenően a *Candida auris* különböző kládjainak virulenciájára, illetve az amfotericin B *in vitro* és *in vivo*

hatékonyságára irányuló vizsgálatok is helyet kaptak a listában. A célkitűzésekből jól látszik, hogy a jelölt nem egyetlen szűk kérdésre koncentrált, hanem több, egymással összefüggő problémát igyekezett egységes kutatási keretben kezelni.

Anyagok és módszerek

A módszertani rész szakmailag megfelelő és jól illeszkedik a célkitűzésekben megfogalmazott kérdésekhez. A különböző MIC-érték-meghatározási módszerek, az MFC-meghatározások, az idő-ölés görbék felvétele, az ölési ráta számítása, a kombinációs vizsgálatok definiált szinergizmus kritériummal, valamint a neutropéniás egérmodell, a letalitási vizsgálatok, a szervi perzisztencia és a szövettani vizsgálatok bevonása egyaránt azt jelzi, hogy a jelölt nagyon sokféle kísérletes megközelítést alkalmazott a vizsgált hatóanyagok, illetve hatóanyag kombinációk *Candida*-ellenes hatékonyságának feltárására.

A dolgozat egyik erőssége, hogy a jelölt törekedett az *in vitro* vizsgálati körülmények *in vivo* viszonyokhoz való közelítésére, és ehhez megfelelő kísérleti rendszereket is alkalmazott (például RPMI + 50% humán szérum alkalmazásával).

Megjegyzendő, hogy a kísérleti munka összetettsége miatt a módszerek részletei nem mindig az Anyagok és módszerek fejezetben, hanem gyakran az eredmények ismertetésénél jelennek meg, ami a követhetőséget némileg nehezíti. Előfordul az is, hogy egyes metodikák ismertetése – példa erre az „5.4.7. Szövettani vizsgálat” alfejezet – kissé vázlatosra sikerült, ráadásul egyetlen hivatkozás nélkül. Mindez az elvégzett kísérleti munka megértését és értékelését érdemben nem befolyásolja, de az áttekinthetőséget javította volna az egységesebb szerkesztés.

Eredmények és megbeszélésük

Az értekezés legfontosabb része az eredmények bemutatása és értelmezése. A fejezetek felépítése követi a célkitűzéseket, ezért a kutatási logika végig jól követhető. A jelölt a hagyományos, MIC-alapú érzékenységi megközelítést több ponton funkcionális végpontokkal – MFC, idő-ölés vizsgálatok, ölési ráta – egészíti ki, és a legfontosabb kérdések esetében *in vivo* vizsgálatokkal is alátámasztja megállapításait. Ez a dolgozat egyik erőssége.

A bemutatott eredmények közül új eredménynek minősülőnek tartom az alábbiakat:

1. A posakonazol farmakodinámiás vizsgálata.

A jelölt igazolta, hogy a posakonazol a szérumban elérhető koncentrációtartományban *Candida* fajokon koncentráció- és időfüggő ölü aktivitást mutat. Egyes fajoknál fungicid, másoknál inkább fungisztatikus profil érvényesül. Ennek a résznek külön értéke, hogy a jelölt az eltérő eredményeket sem hagyja magyarázat nélkül: a *C. parapsilosis* esetében észlelt MFC- és idő-ölés ellentmondásra például értelmezési javaslatot is ad.

2. Rezafungin összevetése a többi antifungális szerrel.

A rezafungin *in vitro* aktivitásának összehasonlítása a gyakoribb és ritkábban előforduló *Candida* fajokon a dolgozat egyik gyakorlati szempontból is fontos eredménye. A jelölt 14 tesztörzsön és 689 klinikai izolátumon hasonlította össze a rezafungin, az anidulafungin, a kaszopofungin, a mikafungin, a flukonazol és az amfotericin B aktivitását. A dolgozat egyik új megállapítása, hogy a rezafungin *in vitro* aktivitása a gyakrabban és ritkábban izolálható sarjadzó gombák esetén összességében hasonló az anidulafungin és a mikafungin aktivitásához.

3. A paradox növekedés és a trailing jelenség vizsgálata.

A jelölt kísérleteiben 13 *Candida* faj 365 izolátumán elemezte négy echinocandin mellett a paradox növekedés és a *trailing* előfordulását. Eredményei szerint a paradox növekedés echinocandin-, faj- és izolátum függő jelenség. Kimutatta, hogy a trailinggel való kapcsolata ennél összetettebb: a két jelenség nem azonos, de egyes esetekben összefügghet, mert a 24 óránál észlelt paradox növekedést 48 óra múlva több izolátumnál trailing váltotta fel.

4. A nagykoncentrációjú kaszpfungin csökkent ölü aktivitása és a nikkomicin Z hatása.

A dolgozat lényeges eredménye annak bemutatása, hogy a kaszpfungin nagy koncentrációi mellett több izolátumnál csökkent ölü hatás figyelhető meg, jóllehet alacsonyabb koncentrációkon ugyanaz a szer fungicid aktivitást mutat. A jelölt ezt az idő-ölés görbék alapján is igazolta, és a jelenséget nemcsak *C. tropicalis*, hanem más fajok esetében is vizsgálta. Ezzel összefüggésben fontos eredmény, hogy a kitinszintézist gátló nikkomicin Z több esetben additív vagy szinergista módon fokozta a kaszpfungin hatását, vagyis a csökkent ölü aktivitás mérsékelhetőnek bizonyult.

5. Nikkomicin Z hatása anidulafungin és mikafungin mellett *Candida auris* esetén.

A nikkomicin Z hatását a jelölt nemcsak kaszpfungin mellett, hanem anidulafungin és mikafungin kombinációjában is vizsgálta a *Candida auris* négy fő kládjához tartozó izolátumokon. Kimutatta, hogy ezekben a kombinációkban is gyakori volt az additív, illetve több esetben a szinergista kölcsönhatás, antagonizmust pedig nem észlelt. Ez azért különösen érdekes, mert nem egyetlen echinocandin esetében, hanem több szerrel is hasonló eredményeket kapott.

6. A szérum hatása a kaszpfungin ölü aktivitására.

A szérumhatás vizsgálata során a jelölt a kiválasztott fajokon RPMI-1640-ben és 50% humán szérumban is felvette az idő-ölés görbéket. Eredményei szerint a kaszpfungin 50% szérumban, fiziológiás és szuprafiziológiás koncentrációkon, több *Candida* faj esetében koncentráció független *in vitro* ölü aktivitást mutatott. Eredményei révén bizonyította, hogy az RPMI-ben mért aktivitás önmagában nem feltétlenül tükrözi megfelelően az *in vivo* hatékonyságot.

7. In vitro–in vivo összefüggések és a dózisemelés korlátai.

A kaszpfungin *in vitro* és *in vivo* hatékonyságának összevetése *C. glabrata*, *C. krusei* és *C. inconspicua* izolátumokon a dolgozat egyik klinikai szempontból is fontos része. A jelölt RPMI-1640-ben és 50% szérumban mért ölési rátákat vetett össze neutropéniás egérmodellben kapott eredményekkel. A dolgozat egyik lényeges új megállapítása az, hogy az emelt napi dózisú kaszpfungin kezelések ezeknél a fajoknál nem bizonyultak hatékonyabbnak a standard dózishoz képest, ugyanakkor paradox növekedést sem indukáltak *in vivo*.

8. A „psilosis” csoport *in vivo* vizsgálata.

A „psilosis” csoporttal végzett kísérletek alapján a jelölt arra a következtetésre jut, hogy terápiás szempontból e fajcsoport tagjai között nincs lényegi különbség. A flukonazol, amfotericin B és kaszpfungin *in vivo* hatékonyságának vizsgálata során igazolta, hogy a *C. parapsilosis sensu stricto* ellen hatékony dózisok a *C. orthopsilosis* és a *C. metapsilosis* ellen is hatásosnak bizonyultak. Ez azért fontos eredmény, mert a fajok közötti *in vitro* MIC-különbségek klinikai jelentősége korábban nem volt egyértelmű.

9. *Candida auris* virulencia és amfotericin B-hatásossága.

A dolgozat másik értékes része a *Candida auris* vizsgálata. A jelölt neutropéniás egérmodellben igazolta, hogy a *C. auris* négy fő kládjának virulenciája a letalitás és a szervi perzisztencia alapján kisebb, mint a *C. albicans*-é. Emellett a szívben, a vesékben és a májban kládtól függetlenül nagy, multifokális gombaaggregátumokat figyelt meg. Az amfotericin B *in vitro* ölü aktivitása klád- és izolátumfüggőnek bizonyult, és klinikailag elérhető koncentrációkon csak az izolátumok egy részénél volt fungicid. *In vivo* a napi 1 mg/kg amfotericin B javította a túlélést és csökkentette a szívből és veséből kitenyészett gombaszámot, a meningoencephalitis kezelésében azonban hatástalannak bizonyult.

Kérdéseim a jelölthöz

1. A kandidémiák és általában a *Candida* okozta véráramfertőzések jelentősége több helyen növekvő tendenciát mutat, miközben a bakteriális antibiotikum-rezisztencia terjedése is egyre nagyobb kihívást jelent. A jelölt véleménye szerint mi állhat elsősorban a *Candida* fertőzések arányának, illetve klinikai jelentőségének növekedése mögött: a betegpopuláció megváltozása, az invazív beavatkozások gyakoribbá válása, az antifungális profilaxis és empirikus terápia hatása, vagy más tényezők?
2. A posakonazol esetében a *C. parapsilosis* izolátumoknál a jelölt az MFC alapján több esetben fungicid hatást észlelt, míg az idő-ölés görbék ezt nem támasztották alá. A dolgozatban ennek egyik lehetséges magyarázataként az antifungális *carryover* jelenség merül fel. Milyen további, egyszerűen kivitelezhető kontroll kísérlettel lehetne ezt a lehető legmeggyőzőbben igazolni vagy kizárni?
3. A nagykoncentrációjú echinocandinok mellett megfigyelt csökkent ölü aktivitás kapcsán a jelölt több helyen a kitintartalom növekedésének lehetséges szerepét említi. Mennyiben tartja ezt általános mechanizmusnak, és mennyiben lát inkább faj-, illetve izolátum specifikus eltéréseket a háttérben?
4. A kaszpopungin dózisemelésével kapcsolatban a dolgozat egyik fontos megállapítása, hogy az emelt dózis *in vivo* nem bizonyult hatékonyabbnak a standard kezeléssel. A jelölt szerint ebben inkább farmakokinetikai, farmakodinámiás vagy modell-specifikus tényezők játszhatnak elsődleges szerepet, és mi lenne a legjobb következő lépés e kérdés tisztázására?
5. Hogyan értelmezendők klinikailag a „psilosis” csoporton belüli *in vitro* MIC-különbségek, ha a jelölt *in vivo* modellben azt találta, hogy terápiás szempontból nincs érdemi különbség a fajok között?
6. A jelölt szerint veszítünk-e klinikailag releváns információt azzal, hogy a rutin MIC-leolvasás jellemzően 24 óránál történik, miközben a paradox növekedés és a *trailing* egy része csak 48 óránál válik jól láthatóvá?
7. Ha invazív *C. auris* fertőzésben az echinocandinok az elsődlegesen választandó szerek, ugyanakkor penetrációjuk a húgyutakba és a központi idegrendszerbe csekély, miközben az amfotericin B a dolgozat szerint a meningoencephalitis kezelésében hatástalan volt, akkor a jelölt milyen terápiás stratégiát tartana reálisnak CNS- vagy húgyúti érintettség esetén?
8. A jelölt a *C. auris* esetében új jelenséggként írja le a miokardium kontrakciós sáv nekrozisát. Mennyire tartja ezt fajspecifikus, illetve modellspecifikus megfigyelésnek, és lát-e benne olyan lehetőséget, hogy a kevésbé virulensnek tekintett *Candida* fajok okozta véráramfertőzésekben a szívérintettséget a gyakorlatban alul becsülhetjük?

Összefoglalás és javaslat

Összefoglalva megállapítom, hogy Dr. Majoros László MTA doktori értekezése jelentős, eredeti kutatásokon alapuló munka, amely **több új és szakmailag nagyon értékes megállapítást tartalmaz**. A dolgozat egyik fő erőssége, hogy a hagyományos MIC-alapú érzékenységi megközelítést több esetben funkcionálisabb végpontokkal, illetve *in vivo* vizsgálatokkal egészíti ki, és így árnyaltabb képet ad a vizsgált antifungális szerek hatékonyságáról és annak korlátairól.

A dolgozat alapjául szolgáló publikációs teljesítmény és a tudásmetriai mutatók a tézisfüzetben közölt adatok alapján egyértelműen **megfelelnek az MTA doktori cím követelményeinek**.

Mindezek alapján Dr. Majoros László doktori értekezését nyilvános vitára bocsátásra alkalmasnak tartom és javaslom számára az MTA doktora cím odaítélését.

Szeged, 2026. február 28.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized 'V' and 'C'.

Dr. Vágvölgyi Csaba
egyetemi tanár
az MTA doktora