

Dr. Kálmán Bernadett MTA Doktori Értekezésének bírálata

Dr. Kálmán Bernadett mintegy 20 éves kutatómunkájának legjelentősebb eredményeit foglalja össze dolgozatában, melynek témája a genomika szerepének vizsgálata a sclerosis multiplex pathogenesisében. A Jelölt kutatói tevékenységének progresszivitása és a téma aktualitása kétségtelen, a dolgozatról egyértelműen kiderül, hogy rendelkezik szakterület által megkívánt komplex felkészültséggel és metodikai ismeretekkel.

Olyan betegség patomechanizmusával foglalkozik, amely a neurológián belül relatíve nagy populációt érint, és amely genetikai rizikótényezőit illetően ismereteink hiányosak, ugyanakkor ezek pontosabb megismerése a betegség terápiáját illetően is fontos információkat szolgáltatna. A molekuláris biológiai metodikák fejlődésének köszönhetően az SM pathogenesisét illetően egyre több információval rendelkezünk, ennek ellenére azonban még ma sem tisztázott a betegség pontos pathomechanizmusa, az arra hajlamosító genetikai és környezeti tényezők. A több esetben megfigyelt családi halmozódás és az ikervizsgálatok arra utalnak, hogy genetikai faktorok is fontos szerepet játszanak a betegség pathogenesisében. Az eddigi vizsgálatok alapján az MHC gének bizonyos haplotypusai (DRB11501, DQA10102, DQB10602) mutatták a legerősebb asszociációt a betegséggel. Az MHC asszociáció azonban az egyes populációkban nagyon eltérő. Ez arra utalhat, hogy más nem MHC gének is felelősek lehetnek a betegség kialakulásáért. A szerző a sok esetben maternálisra emlékeztető öröklődés menet miatt feltételezte, hogy a mitochondriális DNS variánsok is fontos szerepet játszhatnak az SM pathogenesisében, ezért kutatásának középpontjába a mitochondriumok és a mitochondriális genom neurodegenerációban játszott szerepének vizsgálatát helyezte.

Az értekezésben bemutatott kutatási eredmények alapján olyan jelentőségű, új és eredeti megállapítások fogalmazhatók meg, melyek az említett kórállapotokhoz kapcsolódó ismereteket meghatározó mértékben gazdagítják mind tudományos, mind pedig klinikai szempontból. A Jelölt tudományos kvalitása és mérhető scientometriai teljesítménye az MTA Orvosi Osztályának a benyújtáskor érvényes követelményeinek megfelel, valójában azt meghaladja. Közleményeinek száma 56, kumulatív impact faktora 128,506 független idézeteinek száma 707, Hirsch indexe:15. A pályázat alapját képező munkák adatainak hitelességét illetően kétely nem merül, erre biztosíték Dr. Kálmán Bernadett eddigi pályafutása, a társszerzők személye valamint a közleményeket publikáló hazai és nemzetközi folyóiratok lektorálási és szerkesztőségi mechanizmusa.

A dolgozat angol nyelven íródott, terjedelme megfelelő, referencialistával együtt 147 oldal. Az értekezésben található ábrák és táblázatok külön listája nem található, saját számolás alapján 31 táblázat és 20 ábra segíti az adatok rendszerbefoglalását, illetve az eredmények professzionális szemléltetését. (Megjegyzendő, hogy a táblázatok formázása nem egységes helyenként azok teljes mértékben a szövegbe ágyazódnak, és alig különülnek el attól (pl. 15/b Táblázat).) A bíráló dolgát nehezítve a Jelölt nem tüntette föl külön a disszertáció alapjául szolgáló közlemények listáját, azokat a teljes referencia listába ágyazva adja meg, amely összesen 280 közleményt sorol fel. A referencialista a Jelölt irodalomban való jártasságát tükrözi, a terjedelemhez viszonyítva arányos nagyságú. Segíti az olvasót a

rövidítések jegyzéke a dolgozat végén. A dolgozat tagolása megfelelő, bár kissé szokatlan annak sajátos logikája. Egy rövid általános bevezetőt követően, ugyanis nem a klasszikus módon az Anyagok és módszerek, majd Eredmények és Diskusszió fejezetek következnek, hanem 2 fejezetre bontva úgy mutatja be tudományos eredményeit, a „*The role of chemokines in inflammatory demyelination*”, és a „*Mitochondrial genetics and mechanisms of neurodegeneration in MS*” című fejezetekben, hogy mindkét fejezeten belül találunk bevezetést, betegeket és módszereket, eredményeket és diskusszió alfejezeteket. A vizsgált betegek ismertetése metodikánként külön-külön történik. Az alkalmazott metodikák modernnek és rendkívül sokrétűek. Ennyi módszert uralni és megbízhatóan alkalmazni nagyon nehéz feladat. A 4. Következtetések című fejezetben a Jelölt nem az összes eredményt, hanem csak az mitochondriumok szerepét diszkutálja az inflammáció következtében kialakuló neurodegeneratív folyamatokban. Megjegyzendő, hogy ez a megbeszélés alapos tárgyi és irodalmi tájékozottságot tükröz. A Célkitűzések fejezetet hiányoltam a disszertációból.

Az alábbiakban a részletes vélemény fejezetenként tárgyalva, valamint az opponensi kérdések kerülnek ismertetésre.

A CC chemokinek szerepe a gyulladássos demyelinizációban

A fejezetben egy nagyon szépen felépített vizsgálatsorozatról olvashatunk. A beválasztott családok diagnózisa 2 különböző kritériumrendszer alapján történt (Poser és McDonald). Az 1. táblázatban az oszlopok elcsúsztatása nehezíti az értelmezést. Hiányoltam a DS101-DS115 betegeknél az etnikum feltüntetését, hiszen az egyes SNP mintázatok populációkat jellemeznek. A 2.2.2 alfejezetben szerencsés lett volna a vizsgált SNP-k feltüntetése, vagy egy olyan link megadása, ami a ténylegesen vizsgált SNP-t tartalmazza, ui. a megadott <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp> link olyan honlapra vezet bennünket, ahol a humán genom ismert SNP-ire lehet rákeresni, de az nem derül ki, hogy a vizsgálatban mely SNP-eket elemezték.

A vizsgálatok eredményeként megállapították, hogy azok a markerek, amelyek $p > 0.05$ mind a CCL régió belül voltak. A megbeszélésben a Jelölt összehasonlítja eredményét egy 2007-ben publikált GWAS vizsgálat eredményével, amely csak gyenge score-t igazolt a vizsgált 17q11 régióban. A különbséget a vizsgált populációk különbözőségével magyaráz. Ez esetben különösen fontos annak ismerete, hogy a dolgozatban vizsgált családok mely populációkból tevődtek össze.

A témához kapcsolódó kérdéseim:

Az „International Multiple Sclerosis Genetics Consortium & The Wellcome Trust Case Control Consortium” által közölt Nature 2011; 476:214-219 Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis című közlemény 9772 beteget vizsgáló GWAS eredményei, hogyan viszonyulnak a dolgozatban leírtakhoz?

A CCL molekulák expressziós mintázatának vizsgálatokor milyen régióból származtak a vizsgált szövettani blokkok?

Mitochondriális genetika és a neurodegeneráció mechanizmusa SM-ben

A kísérletsorozat bemutatásánál érződik a vizsgálatok gondos megtervezése, hiszen számos metodikával és több szempontból is körüljárja a felvetett problémákat. A vizsgálatok következetesen egymásra épülnek, jól illusztrálják a tervező logikus gondolkodását.

A vizsgálatok eredményeként a Jelölt megállapítja, hogy se SM-ben, se PON-ban, se NMO-ban nem találtak pathogén mtDNS mutációkat. Mind az MS és LHON a J haplotypussal mutat asszociációt. SM-ben a Complex I az „upstream inflammáció” és a „downstream neurodegeneráció” kapcsolatában fontos szerepet tölthet be. Az NDUFS5, NDUFS7 és NDUF7 gének haplotypus variánsai a SM-el asszociációt mutatnak.

Az ehhez a témához kapcsolódó kérdések:

Az mtDNS mutációk, variánsok és haplotypusok vizsgálatánál az SM-ben, mi alapján választotta ki a Jelölt az a 20 beteget, akiknél az ND-4, ND-1 és ND-6 gének sequenálásával és azt a 33 beteget, akiknél csak a 4 LHON secunder mutáció vizsgálata történt meg? A bíráló hiányolta ennek az 53 betegnek a klinikai jellemzőit, ui. arra gondolt, hogy a szelekció esetleg a phenotypuson alapult.

Van-e arra adat, hogy

- másodlagos LHON mutációk gyakrabban fordulnak elő egyéb autoimmun betegségekben is,
- másodlagos LHON mutációk más mtDNS betegségekben is gyakrabban detektálhatók arra utalván, hogy a patogén mtDNS mutációk hatását a nem patogén SNP-k modifikálják?

A 3 SM betegnél, akiknél a teljes mtDNS-t sequenálása történt, milyen szövetből történt a DNS izolálása? A talált mutációk mindegyike homoplasmikus volt? A 19. Táblázatból ui, ez az információ nem derül ki egyértelműen, mert a heteroplasmia jelölő oszlopban vannak sorok, amelyek üresen maradtak.

A 3 SM és 3 NMO betegekénél, akiknél teljes mtDNS sequenálás történt, a talált mtDNS variációk száma, hogyan viszonyult az egészséges kontroll mtDNS variációkhoz, azaz több SNP volt-e jelen a vizsgált betegekben? Hány egészséges korban illesztett kontroll egyén mtDNS-t sequenálták meg?

A Complex I -t kódoló nDNS vizsgálatok során pozitív asszociációt találtak az NDUFS5, NDUFS7 és NDUF7 gének bizonyos haplotypusaival. A nagy kohortokat vizsgáló legújabb GWAS vizsgálatok is találtak-e asszociációt ezekkel a génekkel?

Hogyan alakul a többi légzési lánc complex aktivitása SM-ben?

Mi a véleménye a Jelöltnek az sclerosis multiplex-el egyértelműen kapcsolatba hozható alacsony D vitamin szint és a mitochondriális dysfunctió kapcsolatáról?

Összefoglalva: a Jelölt gazdag pályázati anyaga a beadás idején eredeti kutatásokat tartalmazó publikációkra és azokat összefoglaló tézisekre épül, mely a hazai sclerosis multiplex klinikai kutatás kimagasló munkájának tekinthető. Jelentős, originális, a

mindennapi klinikai gyakorlatban is hasznosítható eredményekkel gyarapította az általa művelt hazai és nemzetközi tudományterületet. Dr. Kálmán Bernadett hosszú időn át következetesen folytatott vizsgálatait, eredményei bizonyítják jelentős kutatói tevékenységét, teljesítménye és disszertációja egyértelműen megalapozzák az MTA doktora címre jelölést, ezért a kérdések megválaszolása után pályázatának elfogadását, számára a doktori cím odaítélését javaslom

Budapest, 2011. október 21.

Dr. Molnár Mária Judit
egyetemi tanár
az MTA doktora