

## **Opponensi vélemény**

**Dr. Kónya József**

**„Klinikai és kísérletes vizsgálatok perzisztens fertőzésekhez társuló kórfolyamatokban”**

**című MTA doktori pályázatáról**

Dr. Kónya József a „Klinikai és kísérletes vizsgálatok perzisztens fertőzésekhez társuló kórfolyamatokban” címmel benyújtott MTA doktori pályázata széleskörű, korszerű módszereken alapuló munkát mutat be, aktuális kérdéseket vet fel. Dr. Kónya József a perzisztens fertőzések patogenetikai hátterét vizsgálta három klinikai témában: a humán papillomavírusok (HPV) szerepét a cervikális karcinogenezisben; a human herpesvírusok (HHV) szerepét a periodontitis apicalis chronicában és a morbillivírus szerepét az otosclerosisban. A klinikai tanulmányok során molekuláris epidemiológiai módszereket használva igazolta, hogy a mikroorganizmusok jelenlétéhez olyan patomechanizmusok társulnak, amelyek hozzájárulnak a vizsgált megbetegedés fenntartásához, progressziójához. A HPV patogenetikai szerepének vizsgálata során a jelölt a molekuláris feltételrendszer időbeli és reverzibilitási pontjait is vizsgálta, amelynek eredményei konzisztensen illeszkedtek a betegség specifikus halmozódásra vonatkozó eredményeihez.

A benyújtott munka 143 oldalon, egységes szerkezetben foglalja össze a pályázó kutatásait. Az értekezés érdemi részei, a bevezetés, célkitűzések, vizsgálati módszerek, eredmények és megbeszélés, összefoglalás és új eredmények együtt 115 oldalt tesznek ki, 23 táblázattal és 16 ábrával. Ezt egészíti ki az irodalomjegyzék és a publikációk listája. Hiányolom a dolgozathoz azonban a táblázatok és az ábrák jegyzékét, amelyek a könnyebb eligazodást segítették volna.

A pályázó tájékozottságát támasztja alá, hogy az értekezés nagyon sok összesen 336 irodalmi hivatkozást tartalmaz, közöttük magyar szerzők közleményeit is. A jelölt által vizsgált HPV, Epstein-Barr vírus (EBV) és HHV vírusokat széleskörűen, talán kissé túlméretezetten taglalja a bevezetésben, mely így arányaiban a nagyon hosszú, 37 oldal (27%). Bár meg kell jegyezni, hogy nagyon értékes irodalmi összefoglalás, mely a Koch posztulátumoktól, illetve azok mai értelmezésén át végig vezet az olvasót a választott témákon. A bevezetéshez képest a „Vizsgálati

módszerek” aránytalanul rövid és tömör, mindösszesen 3 oldal terjedelmű, azonban a jelölt által alkalmazott legmodernebb molekuláris módszereket is felsorolja. Ez a főfejezet csupán egy irodalmi hivatkozást tartalmaz annak ellenére, hogy tömören leírja a jelölt az általa használt összes metodikát. Az „Eredmények és megbeszélés” főfejezet a későbbiekben azonban kompenzálja az olvasó hiányérzetét, ugyanis a módszerek részletesebb leírása ennél a fejezetnél történt. Szerencsésebb lett volna ezt megtenni az vizsgálati módszerek részénél. Bár kétségtelen, hogy az vizsgálati módszerek részleteikben a különböző témakörökben nagyon eltérnek egymástól. Így, az adott vizsgálatok eredményeinél leírva jóval áttekinthetőbbé vált az adott fejezet. Véleményem szerint, azonban előnyösebb lett volna, ha már a módszerek ismertetésénél több utalást tett volna a jelölt.

A jelölt vizsgálati három kérdéskört ölelnek fel. Egyrészt elemezte a HPV és cervikális karcinogenezis kapcsolatát. Ennek keretében megvizsgálta a nukleinsav hibridizáción alapuló Hybrid Capture HPV® rendszer klinikai értékelését, melyet kiegészített a restrikciós fragment hossz alapú tipizálással. A HPV kimutatás és a további tipizálás szerepét analizálta az onkogén kockázat becslésében a cervikális karcinogenezis korai szakaszában. A továbbiakban elemezte a HPV fertőzés onkogén kockázatát a kóros citológiai elváltozás mellett, illetve a HPV kimutatás prognosztikai értékét CIN léziók műtéti eltávolítása után. Vizsgálta a méhnyak szöveti környezetében kiemelt szerepet játszó IL-10 promotor szakasz polimorfizmusát és epigenetikai szabályzását, illetve a HPV-16 onkoproteinek hatását a non-receptor Src tirozinkinázokra a proliferálódó és differenciálódó keratinocitákban.

A jelölt által elemzett másik témakör a HHV-ok és a periodontitis apicalis kapcsolata volt. Itt vizsgálta az endodonto-patogén baktériumok által kiváltott periodontitis apicalis chronica kórfolyamatban az EBV, a humán cytomegalovírus (CMV) és a HHV jelenlétét és azok transzkripciós aktivitását, összevetette a periapikális léziók méretével, manifestációjával. A periapikális léziókban a gyulladásos folyamatban meghatározó szerepet játszó TNF-alfa és TGF-béta expresszióját transzkripciós szinten vetette össze az EBV, a humán CMV és a HHV fertőzésekkel.

A jelölt által vizsgálat harmadik témakör a morbillivírus és az otosclerosis kapcsolata volt. A morbillivírus RNS-nek előfordulását tanulmányozta a klinikailag otosclerosisra gyanús elváltozásokban, valamint a szövettanilag verifikált otosclerosisban. Az otosclerosisos léziókban

a gyulladásszerű és a csontátépítési folyamatban meghatározó szerepet játszó TNF-alfa expresszióját transzkripció szinten analizálta és összevetette a kórfolyamat aktivitásával.

**A jelölt a következő új eredményeket írta le:**

A nukleinsav hibridizáción alapuló Hybrid Capture HPV® rendszer hatékonyan kiegészíthető a PCR amplifikáción és restrikciós enzimhasításon alapuló tipizálással.

Az elsődleges vakcina típusok (HPV-16, HPV-18) onkológiai kockázata háromszorosan meghaladja az egyéb onkogén típusokét.

Igazolta a papillomavírus kimutatás kiváló negatív prediktív értékét mind citológiai atípiában, mind a rákmegelőző elváltozások műtéti eltávolítása után.

Az IL-10 promoterben nt-1082(rs1800896) G allélt hordozó nők kevésbé voltak fogékonyak a HPV fertőzéstől független citológiai atípiára, mint az AA homozigóták. Ugyanakkor a HPV által indukált citológiai eltérésekre nem hatott az IL-10 promoter nt-1082 polimorfizmusa. Az IL-10 gén epigenetikusan inaktivált állapotát nem befolyásolta a HPV genom jelenléte vagy hiánya.

A jelölt bizonyította, hogy az endodonto-patogén baktériumok által kiváltott periodontitis apicalis chronica kórfolyamat hátterében nagy gyakorisággal fordult elő a HHV-6B, illetve az EBV vírus is, és az esetek kétharmadában megfigyelhető volt a transzformáló EBNA gének transzkripció aktivitása és TNF-alfa génexpresszió emelkedése is.

A morbillivírus RNS-nek jelenléte specifikusan társult az otosclerosis által okozott stapes fixációhoz és csak a megbetegedést okozó gócban fordult elő, a környező, eltérő fejlődéstani eredetű csontokban nem.

A TNF-alfa mechanizmus aktiválódása jellemzően a stapes ankylosis morbillivírus pozitív, otosclerosis formájának aktív stádiumában jelent meg.

### Kérdések a jelölthöz:

1. Az értekezés 53. oldalán a jelölt beszámol arról, hogy „Összességében 97%-ban (111/114) igazolódott, hogy a teszt valóban jól jelezte onkogén HPV típus jelenlétét. A maradék három esetben a Hybrid Capture HPV teszt a biztonságos oldal felé tévedett, nem onkogén HPV mellett is megjelent a magas kockázatú típust jelző gyenge hibridizációs szignál. A Hybrid Capture HPV teszt későbbi verziójában is kimutatták a kimutatott HPV típusok spektrumának kereszthibridizációból eredő bővülését.” Nem tartja-e reális veszélynek, hogy a HPV Hybrid Capture rendszer az onkogén HPV típust nem onkogén típusnak jelöli?
2. Kérem a jelöltet, hogy hasonlítsa össze az általa használt a HPV Hybrid Capture rendszert, a többi széleskörben alkalmazott, forgalomban lévő, Hybrid Capture 2 (HC2), Cobas, CLART és APTIMA rendszerekkel.
3. A jelölt a kísérletek során mélyrehatóan vizsgálta a HPV vírus fertőzés hatását és az IL-10 gén promotorén a metiláció összefüggéseit. Ismert, hogy a cervicális epithel sejtekben a HPV hatására megváltozik a különböző citokinek, mint például: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- $\alpha$  és TNF- $\beta$  termelése. Mi indokolta, hogy a vizsgálatok során az IL-10 szerepével kiemelten foglalkozott a jelölt?
4. A jelölt endodonto-patogén baktériumok által kiváltott periodontitis apicalis chronica kórfolyamatban igazolta az EBV vírus szerepét, illetve, hogy az EBV fertőzések mintegy kétharmadában megfigyelhető a transzformáló EBNA gének transzkripciós aktivitása. Ismert, hogy a szintén herpes vírus családba tartozó CMV periodontitis apicalis chronica kórfolyamatban szintén szerepet játszhat. Van-e arra vonatkozó adat, hogy a jelölt által vizsgált EBV negatív esetek háttérében esetleg CMV fertőzés állt?
5. A periodontitis apicalis chronica háttérében álló EBV fertőzéssel, illetve az EBNA gének transzkripciós aktivitásával hogyan korrelál a ROS termelés, illetve a kappa B nukleáris faktor ligand receptorok expressziója?
6. Van-e arra vonatkozó adat, hogy a periodontitis apicalis chronica háttérében álló EBV fertőzések esetében melyik EBV-nuclearis antigén szerotípusok játszottak szerepet?
7. A legfrissebb irodalmi adatok (Clin Implant Dent Relat Res. 2015 Feb;17(1):199-207) alapján az EBV asszociált periapicalis periodontitis összefüggésbe hozható a retrograd

infekciós peri-implantitis-sel. Van-e arra vonatkozó klinikai adat, hogy a jelölt által kimutatott EBV pozitív esetekben retrograd infekciós peri-implantitis alakult ki?

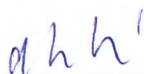
8. Ismert, hogy a morbillivírus sejtekhez történő kötődésében jelentős szerepe van a CD46 receptornak. Van-e szerepe, illetve jelentősége a CD46 receptor isoformáinak a morbillivírusnak az otosclerosis által okozott stapes fixációhoz?
9. A jelölt a vizsgálataiban bizonyította, hogy a TNF-alfa mechanizmus aktiválódása jellemzően a stapes ankylosis morbillivírus pozitív, otosclerosisos formájának aktív stádiumában jelenik meg. Az interleukin 1 $\beta$  és az osteoprotegerin szerepe is ismert az otosclerotikus csont átalakulásban. Hogyan alakul az interleukin 1 $\beta$  és az osteoprotegerin szintje a stapes ankylosis morbillivírus pozitív, otosclerosisos formájában?

### **Összefoglaló vélemény**

Dr. Kónya József akadémiai doktori értekezése új ismeretekkel szolgál a humán papillomavírusok cervikális karcinogenezisben játszott szerepéről, a herpesvírusoknak a periodontitis apicalis chronicában játszott szerepéről és a morbillivírus szerepéről az otosclerosisban. Az alkalmazott módszerek korszerűek, az elért eredmények nemzetközi viszonylatban is újdonságnak számítanak. Az értekezés formailag és szakmailag is megfelel a nagydoktori cím követelményeinek. A jelölt tudományos közleményeinek száma a dolgozat benyújtásának pillanatában: 92, amelyből az értekezés alapjául 16 közlemény szolgál. A közlemények kumulatív impakt faktora: 147,2. Összesített; független citációja: 839; 761, míg a Hirsch-indexe: 17.

A leírtak alapján Dr. Kónya József számára az akadémiai doktori cím odaítélését messzemenően támogatom.

Budapest, 2016. október 10.



Dr. Szabó Dóra, egyetemi tanár

az MTA doktora