



Bírálati vélemény Dr. Bácsi Attila „Reaktív oxigén származékok szerepe a pollen által kiváltott allergiás reakciók kialakulásában” című MTA doktori értekezéséről

Az allergiás megbetegedések előfordulása az utóbbi évtizedekben folyamatosan emelkedik. Az új, hatékonyabb terápiás megközelítések kidolgozásához kulcsfontosságú lenne az allergiás gyulladás kialakulásához vezető folyamatok alaposabb megismerése. Sok megfigyelés utal arra, hogy a reaktív oxigén származékoknak / szabadgyököknek fontos szerepük van az allergiás folyamatok patogenezisében. Az immunrendszer számos sejttypusában megtalálható a ROS-termelésre specializálódott NADPH oxidáz rendszer, amely jelentős mennyiségű ROS termelésére képes. A neutrofil granulocitákban megtalálható Nox2 enzimkomplex baktériumok elleni védekezésben játszott szerepe jól ismert, azonban sokkal kevesebbet tudunk arról, hogy más immunsejtekben, például limfocitákban, dendritikus sejtekben milyen szerepet játszik a ROS irányított termelése. Az elmúlt évtizedben arra is fény derült, hogy a légúti epitel sejtek maguk is tartalmazznak ROS-termelő enzimeket, amelyek szintén szerepet játszhatnak az allergiás gyulladás kialakulásában. Dr. Bácsi Attila eredményeinek az az újszerűsége, hogy magukban az allergiát kiváltó partikulumokban, a pollenekben azonosított korábban ismeretlen ROS-termelő mechanizmusokat, amelyek számos különböző úton járulhatnak hozzá az allergiás gyulladás kialakulásához.

Az eredményeknek nagyon fontos gyakorlati vonatkozásai vannak, ugyanis felvetik annak a lehetőségét, hogy a pollen-oxidáz farmakológias gátlása vagy antioxidánsok célzott bevitele új megközelítés lehet az allergiás betegségek gyógyszeres kezelésében.

A dolgozatban tárgyalt új tudományos eredmények közül az alábbiakat tartom a legfontosabbaknak:

1. Kimutatta, hogy a pollenszemek és a szubpollen részecskék NADPH oxidáz aktivitással rendelkeznek és az enzim(ek) által termelt ROS oxidatív stresszt okoznak a kísérleti állatok légutaiban.
2. Megállapította, hogy a pollen ROS-termelés által létrehozott oxidatív stressz fokozza az allergiás gyulladást légutakban és a kötőhártyában.
3. Kimutatta, hogy lokális antioxidáns kezeléssel csökkenteni lehet a pollenszemcsék által létrehozott oxidatív stresszt és ezek a beavatkozások az allergiás gyulladást is csökkentik.
4. Kimutatta, hogy a pollenszemcsék NADPH oxidáz aktivitása képes aktiválni a dendritikus sejteket.
5. Megállapította, hogy az oxidatív stressz hatására kialakuló mitokondriális károsodás fontos lehet az allergiás gyulladások kialakulásában és a mitokondriális DNS oxidációja befolyásolja annak immunmodulátor hatását.

Dr. Bácsi Attila MTA doktori értekezése összesen 11 közleményen alapul, amelyek összesített impakt faktora 72.5. A közlemények közül a jelölt összesen nyolcban első vagy utolsó szerző. A

közlemények a vezető immunológiai, allergológiai (Journal of Allergy and Clinical Immunology, Journal of Immunology) vagy szabadgyök kutatással (Free Radical Biology and Medicine) foglalkozó újságokban jelentek meg. A pályázó egyik legfontosabb felfedezését pedig a Journal of Clinical Investigation lapban közölte, amely a klinikai vonatkozású alapkutatások legrangosabb nemzetközi fóruma.

A jelölt doktori műve egy részletes, a kutatási területet bemutató bevezető után jól szerkesztett metodikai részt tartalmaz, amely tartalmazza az értekezésben tárgyalt kísérletek során alkalmazott anyagok és módszerek rövid leírását. Az eredmények és megbeszélés fejezetben a szerző az értekezés alapját képző publikációk anyagát ismerteti és diszkutálja, végül egy rövid következtetések fejezetben összegzi a legfontosabb eredményeit és azok lehetséges gyakorlati alkalmazását. A doktori mű tartalmazza még a tárgyalt közlemények különlenyomatait. A doktori értekezésről, mint írásműről általában elmondható, hogy jól olvasható, a szerző pontosan fogalmazva és jól szerkesztett ábrák segítségével mutatja be az eredményeit. A dolgozattal kapcsolatos észrevételeim és kérdéseim a következők:

1. A bevezetésben nem szerepel, ugyanakkor jó néhány éve ismert, hogy a légutak epitélsejtjei is tartalmaznak szabályozott ROS-termelést mediáló NADPH oxidáz enzimeket (Duox1 és Duox2), amelyek expressziója IL-4 és IL-13 hatására jelentősen növekszik. Milyen interakciók alakulhatnak ki a légúti epitélsejtek saját ROS-termelése és az értekezésben tárgyalt ROS-termelő mechanizmusok között?
2. A jelölt a bevezetőben megemlíti (7. oldal), hogy a mitokondriális ROS termelés nélkülözhetetlen szerepet játszik a hipoxia-indukálható (HIF) transzkripciós faktor aktiválásában. Tudomásom szerint a HIF legfontosabb, jelenleg ismert szabályozását a prolin-hidroxiláz enzimek és ubikvitin-ligáz enzimek mediálják és a mitokondriumok pontos szerepe továbbra sem tisztázott az oxigénérzékelésében.

3. A tiol csoportok H_2O_2 -mediált oxidációja nem feltétlenül vezet diszulfid hidak kialakulásához (11. oldal). A cisztein, cisztein szulfénsavvá történő oxidációja önmagában megváltoztathatja a célfehérje szerkezetét és funkcióját, ahogyan ez pl. a protein tirozin foszfatáz enzimek esetében is történik.
5. Az anyagok és módszerek fejezetben nem találtam információt arra vonatkozólag, hogy a parlagfű pollen extrakt (ragweed pollen extract) pontosan milyen eljárással készült.
6. A különböző eukarióta sejtekben expresszáldó NADPH oxidázok membrántopológiájára és működésére jellemző, hogy a NADPH kötő régió intracellulárisan helyezkedik el és a szuperoxid anionok termelése az extracelluláris tér felé történik. Az értekezésben ismertetett kísérletekben viszont azt tapasztalták, hogy az extracelluláris térben alkalmazott NADPH (és néhány esetben NADH) növeli az intakt pollenszemek és szubpollen részecskék ROS-termelését. Milyen mechanizmussal történhet ez? Elképzelhető-e, hogy a NADPH hiányában detektált és a NADPH-val stimulált ROS termelés hátterében két különböző enzim áll?
7. Ha a pollen oxidáz ROS-termeléséhez extracelluláris NADPH vagy NADH jelenlétére van szüksége, akkor milyen mechanizmussal juthat szubsztráthoz a pollen oxidáz a légutakban vagy a conjunctiva felszínén?
8. Több különböző sejttypuson is megfigyelték, hogy a pollen vagy szubpollen hatására oxidatív stressz alakul ki a sejtekben. Mivel a kezelt sejtek maguk is expresszállhatnak olyan ROS-termelő enzimeket, amelyek a pollenkezelés hatására aktiválódhatnak, nem világos a számomra, hogy ezekben a kísérletekben honnan lehet tudni, hogy a detektált ROS milyen forrásból származik. Elképzelhető például, hogy a pollen által termelt ROS aktiválja a kezelt sejtek saját ROS termelését (például az intracelluláris kalcium szint emelésén keresztül).
9. A jelölt kimutatta, hogy a laktoferrin, *in vitro* és *in vivo* alkalmazva egyaránt csökkenti az oxidatív stresszt légúti epitelsejtekben, valamint mérsékli a RWE által indukált légúti gyulladást.

Vizsgálták-e génhiányos egerek vagy neutralizáló antitestek segítségével, hogy az endogén módon expresszálandó laktoferinnek van-e hasonló szerepe?

10. Az extracelluláris, mitokondriális DNS oxidációja fokozta mtDNS pDC-aktiváló hatását. Az értekezésben ismertetett kísérletekben HL60 és Sp2/0-Ag14 sejtek Antimycin A-val történő kezelésével indukálták a mitokondriális DNS oxidációját. Vajon *in vivo* körülmények között milyen oxidatív folyamatok vezetnek a mtDNS módosulásához?

Véleményemet összefoglalva, Dr. Bácsi Attila doktori értekezését fontos felfedezéseket tartalmazó, kiemelkedő igényességgel megírt munkának tartom. Javaslom a nyilvános vita kitűzését és a doktori fokozat odaítélését.

Budapest, 2017. április 21.



Dr. Geiszt Miklós
az MTA doktora
Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet