

**Bírálat**  
**Dr. Józsi Mihály:**  
**A H-faktor molekulacsalád tagjainak élettani funkciója és**  
**szerepük komplement-közvetítette betegségekben**  
**c. MTA doktora értekezéséről**

Dr. Józsi Mihály, a Jelölt kereken 100 oldalas dolgozatban foglalta össze az elmúlt 12 évben született kutatási eredményeit. A Jelölt egyetemi szakdolgozó kora óta a dolgozat témáját műveli a komplement kutatásban több évtizedes múltra visszatekintő tudományos műhelyben, az ELTE Immunológiai Tanszékén. A Jelölt itt kezdte el tudományos pályáját, szerezte meg PhD fokozatát, majd ezt követően külföldön töltött posztdoktori periódusát követően tért vissza, már mint önálló kutató az „anyaműhelybe”. A Jelölt példamutató pályáivet tudhat már most is maga mögött. Remélhetőleg sok sikeres magyar kutató fogja követni példáját és többéves külföldi kutatómunka után választja a hazatérést, és a hazai tudományos életet gazdagítja a munkájával.

A dolgozat témája teljes mértékben koherens, a Jelölt a H-faktor és a H-faktorral szerkezeti és funkcionális rokonságot mutató gén- és fehérjecsalád kutatásával kapcsolatos eredményeit mutatja be. A dolgozat 20 közlemény eredményeinek összefoglalása. Ezen közlemények nagy része a Jelölt németországi posztdoktori periódusában született; a Jelölt meghatározó voltát azonban jól mutatja, hogy a közlemények nagy részében vagy első, vagy utolsó szerző. Hazatértét követően született közleményeiben - a Lendület Kutatócsoport által kutatott eredményeket összefoglaló cikkekben - értelemszerűen utolsó szerző a Jelölt, de ezekben a közleményekben (konkrétan a szerző listákban) is tetten érhetők a továbbra is nagyon gyümölcsöző külföldi kollaborációk. A dolgozat szerkesztése és nyelvhelyessége példaértékű, elütést, központozási hibát egyet sem találtam. A mű azt mutatja, hogy a Jelölt egy saját munkájára igényes, akkurátus kutató.

Bírálatom, észrevételeim és kérdéseim fejezetenkénti bontásban.

A **Tartalomjegyzék** és a **Rövidítések jegyzéke** gondosan összeállított, jól áttekinthető.

A Jelölt egy egyoldalas **Bevezetés**-ben adott tágabb kitekintést kutatásának témájára, majd ezt követően 13 oldalon mutatta be a kutatási témájához szorosabban köthető **Tudományterületi háttér**-et. Ebben a fejezetben 6 ábrával és 3 táblázattal teszi még érthetőbbé, átláthatóbbá a terület tudományos háttérét, az eddig született eredményeket. Nagyon jól követhető, érdekesen, olvasmányosan megírt fejezet, az az Olvasó is jó háttér információt kap a tudományterületről, akinek nincsenek alaposabb ismeretei a komplement szabályozásról és annak elemeiről. Ezzel a résszel kapcsolatosan egy hiányérzetem fogalmazódott meg: hasznosnak láttam volna, ha a Jelölt a disszertációban szereplő betegségek pathogeneziséről, pathomechanizmusáról egy-egy féloldalnyi áttekintő ismertetést ad. Ezt két dolog is indokolta volna: egyrészt magának a disszertációnak a címében is hangsúlyos, hogy a H-faktor család betegségek kialakulásában való szerepét kutatta a Jelölt, másrészt valóban a dolgozat számottevő részét

teszik ki a H-faktor molekulacsalád különböző betegségek pathogenezisében betöltött szerepének kutatása.

*A fejezettel kapcsolatos kérdéseim:*

A Jelölt a 9. oldalon ír az RCA gén klaszterről. Milyen információk van arról, hogy mikor történtek a gén klaszter létrejöttéért felelős génduplikációk az evolúció során? Az evolúció során mikor jelentek meg a humán komplement szabályozó faktorokkal funkcionálisan analóg molekulák? Humán vonatkozások tekintetében mennyire hasznosak az alacsonyabb rendűek komplement szabályozásával kapcsolatos tanulmányok eredménye?

A 12. oldalon a jelölt bemutatja a H-faktor molekulacsaládot és egy ábrán szemlélteti az egyes domének homológiáit. Ebből jól látszik, hogy a FHR-1\*A FHR-1\*B, FHR-2 és FHR-5 fehérjék 1. és 2. doménjei mindössze 41-42 illetve 32-34 %-os hasonlóságot mutatnak a H-faktoron homológ 6-7-es doménnel. Történt-e ennek a nagyfokú különbözőségnek a magyarázatára valamilyen vizsgálat? A H-faktor és a FHR molekulák evolúciója során mikor és milyen változások történtek, melynek eredményeképpen ezekben a doménekben ilyen nagyfokú a szekvencia különbség? Ugyanez a kérdés merül fel az FHR-3, FHR-4A, FHR-4B, FHR-5 molekulák utolsó doménje és a vele homológ H-faktor domain faktor (20-as) relációjában.

A Jelölt a 14. oldalon ismerteti, hogy a H-faktor Y402H polimorfizmusa milyen fontos szerepet játszik az időskori makula degeneráció kialakulásában. Ismert-e, hogy ez a polimorfizmus a különböző populációkban eltérő ritka allélfrekvenciában fordul elő és ennek van-e következménye abból a szempontból, hogy a különböző nagyrasszokban a makula degeneráció eltérő arányban fordul elő?

A **Célkitűzéseket** egy oldalban, hat pontba szedve fogalmazta meg a Jelölt. Már itt is jól látszik, hogy az ismertetett munka az alapkutatástól a molekulák terápiás fejlesztéséig fog ívelni.

Az **Anyagok és alkalmazott módszerek** fejezet nem részletező, hanem a specifikumokat kiemelő rész, négy oldalban összeállítva. A fejezetben a Jelölt az értekezés anyagát képező, csatolt húsz cikkben leírt módszerekre hivatkozik. Ezzel a Jelölt sokat spórol a terjedelmen. Ebből a fejezetből egyértelműen látszik, hogy a munka nagy része sejtvonalakon történt és a Jelölt *in vitro* kísérletekkel adott választ a feltett kérdésekre. Egyetlen észrevételem a fejezettel kapcsolatosan, hogy a 21. oldalon említett egyetemi tankönyveket, jegyzeteket és szakkönyveket én ajánlatosnak tartottam volna citálni.

#### **Eredmények és megbeszélésük:**

Ebben a 60 oldalas részben a Jelölt ismerteti a célkitűzésekben megfogalmazott kérdésekre végzett vizsgálatainak eredményeit, majd az eredmények ismertetését követően diszkutálja is azokat. A fejezetben bemutatott 60 ábra mindegyike a szokásosnál jóval részletezőbb ábraaláírásokkal kerül bemutatásra, amelyben a Jelölt viszonylag részletesen ismerteti az eredményekhez vezető kísérletes utat. Ezzel a megoldással, valamint az eredmények és a megbeszélések összevonásával a Jelölt rendkívül koherensen, összeszedetten ismertette a vizsgálatait, így az Olvasó számára nagyon jól követhető kutatómunkájának folyamata.

*A fejezettel kapcsolatos kérdéseim észrevételeim:*

A 26. oldalon a Jelölt írja, hogy a HUVEC sejtek nem fejezik ki a CR1 molekulát. Mi ennek az oka? A sejt immortalizált voltának tudható be, vagy vannak olyan endotél sejtek, amelyek esetleg szervspecifikusan nem fejezik ki ezt a molekulát?

A dolgozat következő részében a Jelölt az aHUS-ban azonosított H-faktor mutációk funkcionális vizsgálata során kapott eredményeit ismerteti. Bemutatja, hogy az egyes mutációk hogyan és milyen mértékben változtatják meg a molekula különböző molekulákhoz – például heparin – való kötődését. A hibás fehérje kötődési sajátosságainak megváltozása milyen mértékben jelenítődik meg a kialakított fenotípusban? Készültek-e genotípus-fenotípus összefüggéseket feltáró vizsgálatok, esetleg ezek metaanalízise? Ezeknek a tanulmányoknak nagy jelentősége lehet az érintett betegek ellátását végző orvosok számára és adott esetben a családok gyermekvállalás előtti genetikai tanácsadásában.

A 35. oldalon aHUS betegek körében végzett vizsgálataikról ír a Jelölt és említ egy aHUS alcsoportot, az ún. D+aHUS betegek csoportját. Nem találtam a dolgozatban arra nézve háttér információt, hogy ez a beteg alcsoport miben tér el az aHUS betegek körétől, illetve nem találtam a dolgozatban olyan eredményt, amely kimondottan erre a betegcsoportra vonatkozik. Kérem röviden térjen ki a fenti kérdések taglalására!

A dolgozat 38-40. oldalán bemutatott eredmények nagyon szépen példázzák a munka translációs jellegét, a disszertáció egyik nagyon értékes részének tartom ezeket az eredményeket. Kérdésem ezzel kapcsolatosan az, hogy mi a helyzet hazánkban az anti-C5 monoklonális ellenanyag eculizumab engedélyeztetésével és finanszírozásával.

A Jelölt az 52. oldalon írja, hogy egész magas arányban azonosítottak egészségesekben is H-faktor ellenes autoantitesteket. Történt-e ezen egészségesek esetében, vagy van-e folyamatban utánkövetés? Ugyanerre a kérdésre a klasszikus példa az a 2003-as NEJM-ben leírt vizsgálati eredmény, miszerint az Egyesült Államok hadseregének vérminta repozitóriumát retrospektív módon megvizsgálva kimutatták, hogy a későbbi SLE-s betegek szérumában jóval a betegség tüneteinek megjelenése előtt már jelen voltak a kóroki autoantitestek (Arbuckle et al, NEJM 2003).

Az 56. oldalon ismerteti a Jelölt az FHR-4 fehérjét és a fehérje két izoformájának elsőként való azonosítását, vizsgálatát. Leírásra kerül az is, hogy ezek a fehérjék glikoziláltak. A kérdésem az, hogy a rovarsejtekben expresszáltatott fehérjék glikozilációja megegyezik-e a májban kifejeződő fehérjék glikozilációjával. Van-e a glikoziláltság mértékének hatása a fehérjék funkciójára?

A dolgozat utolsó fejezetében a Jelölt a mini H-faktor molekulával végzett kísérleteinek eredményét vitatja meg, amelyben kitér arra is, hogy tőlük függetlenül két másik kutatócsoport is végez hasonló kutatásokat, mi több még közös összehasonlító vizsgálatokat is végeztek a három eltérő eredetű mini H-

faktorral. Kérdésem ezzel a résszel kapcsolatosan az, hogy valamely molekula tesztelése átlépett-e már a klinikai fázisba, vagy továbbra is a preklinikai vizsgálatok folynak?

### **Összefoglalás és kitekintés**

A dolgozat utolsó fejezetében a Jelölt 10 pontba szedve összegzi az általa novumként megítélt eredményeket, mindegyikhez római számokkal rendelve az eredményeket bemutató eredeti közleményt. Végezetül a Jelölt ad egy féloldalas kitekintést is, amelyben a jövőbeni terveket is vázolja. Ez utóbbiban igen hangsúlyos tervezett munkájuk transzlációs jellege és a jövőbeli klinikai vonatkozások.

### ***A doktori műben ismertetett eredmények közül a következőket javaslom újdonságként elfogadni:***

1. A Jelölt és munkatársai megállapították, hogy a H-faktor C-terminális doménjével kötődhet az endotél sejtek felszínéhez, illetve más ligandumokhoz, és hogy ezzel a kötődési képességével szerepet játszik a komplement folyamatok szabályozásában. Megmutatták azt is, hogy ugyanezen doménben található mutációk a fehérje funkcióvesztését okozzák és az aHUS betegség pathogenetikai tényezői. Ugyanezen betegség autoimmun formájában az autoantitestek szintén elsősorban a H-faktor C-terminális ellen termelődnek és vezetnek a komplement szabályozás zavarához.
2. A H-faktor molekulacsalád tagjai közül az FHR-4A a Jelölt és munkatársai fedezték fel. Legfontosabb megállapításuk az újonnan felfedezett molekulával kapcsolatosan az volt, hogy az FHR-4A molekula - a gátló hatású H-faktorral ellentétben - a komplement aktiválásában vesz részt.
3. A molekulacsalád tagjai közül vizsgálták az FHR-1-et és az FHR-5-öt is. Azonosították ezen molekulák ligandjait és azokat a mechanizmusokat, amelyekkel részt vesznek a komplement szabályozásában. Az FHR-1 fehérje esetében kimutatták azt is, hogy az aHUS betegség autoimmun formájának kialakulásában fontos pathogenetikai tényező, hogy a H-faktor ellenes autoantitestek gátolják az FHR-1-PTX3 kölcsönhatást.
4. A Jelölt és munkatársai létrehoztak egy mesterséges H-faktor molekulát. Megmutatták, hogy a mini H-faktor a natív molekulánál hatékonyabban gátolja a komplement aktivitását és a jövőben ígéretes terápiás eszköz lehet általa, hogy a szelektíven a komplement támadás alatt álló saját sejtek és szövetek felszínén kötődik.

Összefoglalva megállapítom, hogy a Jelölt, Dr. Józsi Mihály dolgozatában elmúlt 12 éves kutatómunkájának koherens összefoglalását adta meg. Külföldi kutatólaboratóriumokban és hazai, nemzetközi kooperációban végzett vizsgálatai nagymértékben járultak hozzá egy komplement szabályozásban fontos molekulacsalád megismeréséhez. Ismételten szeretném hangsúlyozni, hogy pályáíve – elsősorban a sikeres külföldi kutatómunkát követő hazatérés – példaértékű és a jövő generációk számára követendő.

A fentiek alapján a doktori művet nyilvános vitára alkalmasnak találom.

Szeged, 2018. január 22.

Tisztelettel:



Dr. Széll Márta  
az MTA doktora

