



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM ÁOK

ÉLETTANI INTÉZET

Igazgató: dr. Sáry Gyula egyetemi tanár

6720 Szeged Dóm tér 10.

Telefon: 62/545-101, Fax: 62/545-842

E-mail: sary.gyula@med.u-szeged.hu

Bírálat Varga Zoltán

Feszültség-függő ioncsatornák kapuzása és kölcsönhatása skorpió toxinokkal

című MTA Doktori értekezéséről

Általános vélemény

Varga Zoltán értekezése a PhD megszerzése óta eltelt idő munkáját foglalja össze, igényes, alapos, szakmailag magas színvonalú módon, végig szem előtt tartva a lehetséges orvosi gyakorlati vonatkozásokat. A kísérletek magas komplexitásúak, a módszerek világszínvonalúak. Üdvözlendő, hogy a szerző nem csak megtanult és hazahozott egy új metodikát (Voltage-Clamp Fluorometry), hanem a Debreceni Egyetem ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézetében új laboratóriumot is létrehozott „Ioncsatorna funkcionális szerkezetvizsgáló laboratórium” néven, ami a munkájának itthoni folytatását, további kooperációk kialakítását és az utánpótlás nevelését is lehetővé teszi. Különösen dicsérendők az egyes részek után az orvosi kitekintések, amelyek összekapcsolják kutatásait a napi (illetve jövőbeni) orvosi gyakorlattal.

Szerkezet

Az értekezés a tartalomjegyzék, a rövidítések jegyzéke és az irodalomlista nélkül 110 oldalon tárgyalja a címben megjelölt témát. A bevezetés kimerítő áttekintést ad a feszültségfüggő ioncsatornák nomenklatúrájáról, típusairól, kapuzási módozataikról és a rájuk ható anyagokról, toxinokról. Ezt a részt kissé túl részletesnek tartom; a kívülálló reménytelenül vergődik a nagy mennyiségű és töménységű részlet között; ugyanakkor viszont egyértelműen meggyőzi az olvasót a szerző tájékozottságáról.

A célkitűzés egyértelműen írja körül a vizsgálandó kérdéseket.

A módszerek felölelik az elektrofiziológiát, molekuláris biológiát, immunológiát, szerves kémiát (toxinok) és az eredmények kiértékeléséhez szükséges matematikai-statisztikai analízist egyaránt. Megismerkedhetünk a vizsgálatokhoz használt sejtvonalakkal, a béka petesejtekkel végzett előkészítő folyamatokkal, a molekuláris biológiai eljárásokkal, a toxinok egyes összetevőinek izolálásával, a késői hiperszenzitivitási reakció kiváltásával és mérésével, és áttekinthetjük az elektrofiziológiai technikákat és az azok kiértékeléséhez használt módszereket.

Az eredmények részben választ kapunk a felvetett kérdésekre. Mivel ezek már publikált közleményeken alapulnak, nem sok értelmét láttam vitatni őket. Az azért mindenképp megjegyzendő és a munka javára írandó, hogy minden egyes vizsgálatsorozat végén rövid, a kívülálló számára is érthető összefoglalását kapjuk az eredményeknek.

Az összefoglalás még egyszer áttekinti az eredményeket, a gyakorlati jelentőség c. rész pedig elhelyezi a munkát a gyakorló orvostudomány szemszögéből.

Ábrák

Csak kevés esetben hiányzott az egyes panelek megjelölése (2. és 4. ábra), és van amelyik kissé zsúfolt (55., 59., 66. ábra). Tetszett ugyanakkor, hogy az ábrafeliratok magyarul olvashatók, holott ez valószínűleg plussz feladatot jelentett az írónak. Ezzel együtt, az ábraanyag releváns, jól szolgálja a tartalmat.

Nyelvezet

Az értekezés nyelvezete szabatos, nyelvtanilag korrekt, néhány központosítástól, feloldatlan rövidítéstől és elütéstől eltekintve nem találtam hibát. Az olvasást viszonylag megnehezíti a rengeteg adat, de ez a munka jellegéből következik és aligha kerülhető el.

Irodalom

Az irodalomlista 237 tételt tartalmaz, aminek napra készsége bizonyítja, hogy 2016-ból származó közleményt is tartalmaz (az értekezés 2017-ben íródott...). A referenciák pontosan követik a szöveg gondolatmenetét és kellő helyen kerültek beszúrára ebből a szempontból szerencsés, hogy az irodalomlista nem ABC-nek megfelelően, hanem a szövegben történt említés sorrendjében készült.

Relevancia

Az értekezésben vizsgált problémák illetve jelenségek számos területen kapcsolódnak a gyakorló orvosláshoz:

- gyulladásos szövetekben vagy tumorok környezetében a membránokon levő ioncsatornák kapuzása megváltozik az ionösszetétel, a pH vagy más, biológiailag aktív anyagok jelenléte miatt;

- a gátlószerek-csatornák kölcsönhatás behatóbb ismerete terápiás szempontból alapvető fontosságú, ezért lényeges a különböző potenciális, vagy már létező gátlószerek/toxinok szerkezetének megismerése, illetve annak tanulmányozása, hogy a szerkezet miként befolyásolja a szelektivitást és a membránhoz kötődés mechanizmusát;

- tekintve a kardiovaszkuláris betegségek előkelő helyét a halálozási okok között, a ritmuszavarok ioncsatorna-szintű kezeléséhez szükséges azok működésének részletesebb megismerése;

- a különféle szerves toxinok, így a skorpiótoxinok egyre nagyobb szerepet kapnak az ioncsatorna kutatáson kívül pl. a fájdalomkutatásban, és antimikrobiális valamint antiproliferatív tulajdonságaik miatt és érdekesek orvosi szempontból. A skorpió toxin kivonatának egyebek közt máj- és vesevédő hatása is van, valamint hozzájárul kísérleti állatokban a besugárzás utáni hematológiai paraméterek helyreállításához. Továbbá, az a friss adat, miszerint a skorpiók a körülmények változásaihoz képesek igazítani mérgeik összetételét, fontos megfigyelések lehetőségét vetíti előre, ami a terápiás alkalmazás szempontjából lényeges lehet.

Az értekezés tehát olyan biológiailag alapvető területeken vizsgálódik, amelyeknek jelentősége messze túlmutat az alapkutatáson, nem utolsósorban pedig a nemzetközi kutatások fő sodorvonalában van (a PubMed a K_v csatorna keresőszóra ~15000, a Na csatorna-szív kombinációra ~4500 és a skorpiótoxinok orvosi felhasználására ~550 közleményt sorolt fel).

Az értekezés alapján új tudományos eredményként tekinthetők az alábbiak:

1. A K_v csatornában hosszú depolarizációt követően az inaktiváció hatására a csatorna záródása lassúvá, sebességhatározóvá válik, így hátráltatja a VSD visszatérését az eredeti állapotba;

2. A K_v csatornákat az intra- és extracelluláris oldalon is gátolják a protonok, ami kóros pH tartományban lényeges lehet;
3. Rávilágítottak a $K_v1.3$ csatorna működésére alacsony pH esetén;
4. Azonosítottak egy új skorpió toxint, ami igen kis koncentrációkban is kifejti hatását a $K_v1.3$ csatornára;
5. Javították az anurotoxin szelektivitását a $K_v1.3$ csatornához;
6. Leírták a szívizomban jelentős szerepet játszó $Na_v1.5$ csatorna VSD feszültség függését;
7. Két mutáns $hNa_v1.5$ csatorna kapuzási mechanizmusát írták le, amelyek a brugada szindrómát okozzák;
8. Tisztázták a szív akciós potenciáljában szerepet játszó $Na_v1.5$ csatorna inaktivációs mechanizmusát;
9. Új laboratóriumot hoztak létre „loncsatorna funkcionális szerkezetvizsgáló laboratórium” néven a DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai intézetében.

Az értekezés kapcsán felmerült kérdéseim:

1. Az 5.1.2 fejezet. Ez a rész a K_v csatornák kapuzásának pH függéséről szól. A *Xenopus* pH viszonyai mennyiben tükrözik a humán pH tartományt? A *Xenopus* változó testhőmérsékletű állat: lehet-e ennek befolyása a K_v csatornákra? Hőmérséklet függő-e a csatornák viselkedése?
2. Az 5.1.2 fejezet vége: van esetleg újabb adat arra vonatkozóan, miként jön létre a proton(ok) által a K_v csatorna blokkolása?
3. A 78. oldalon említett „kéz és kesztyű” hasonlat csak a skorpió toxin- K csatorna viszonylatában releváns, vagy más példákat is írtak már le? Jelent-e ez alapvetően új elképzelést a gyógyszer-kötőhely interakciókban, vagy csak egyedi esetről van szó?
4. A szerző többször említi a „zaj analízist”. Hogyan járul ez hozzá a csatornák jobb megismeréséhez?
5. A T limfocitákon kívül más sejteken is van $K_v1.3$ csatorna (pl. mikroglia, asztrociták, vaszkuláris simaizom). Van-e arra vonatkozóan elképzelés, hogy miként lehet a szelektivitást biztosítani, ha terápiás célból alkalmaznak $K_v1.3$ csatornagátlókat?

6. A vizsgált skorpió faj *teljes* méreganyagának melegvérű szervezetbe jutásakor milyen hatásokkal kell számolni?

Összefoglalva

Egy igen magas színvonalon végzett kísérletes munka leírását olvashattam. A szerző metodikai jártassága imponálóan sokrétű. A közlemények IF értékei és a független idézetek száma szintén tükrözi ezt az igényességet. Kiemelendő, hogy Varga Zoltán a haza hozott módszertani ismereteire alapozva új laboratóriumot alapított munkahelyén, a Debreceni Egyetemen.

A munkát ajánlom nyilvános vitára és eredményes védés esetén javaslom a jelöltnek az MTA doktora cím adományozását.

Szeged, 2019. 01. 03.

Prof. Dr. Sály Gyula
tanszékvezető egyetemi tanár