



Opponensi vélemény dr. Várbíró Szabolcs MTA doktori értekezéséről

Dr. Várbíró Szabolcs MTA Doktori Értekezésében a nemi hormonok erekre gyakorolt hatásaival foglalkozik felnőtt patkányokban. Publikációiban és az MTA Doktori Értekezésében azt vizsgálta, hogy normo- és hipertóniában az erekben milyen nemi különbségek jelennek meg morfológiai, biomechanikai és farmakológiai válaszok tekintetében. Hiperandrogén modellekben meghatározta a D vitamin kezelés hatásait az erek morfológiai, biomechanikai tulajdonságaira. Továbbá menopauza állatmodellekben kimutatta az erekben a mechanikai és a farmakonok indukálta változásokat, valamint normo- és hipertenziós állapotokban hormonpotló terápia után.

A kísérletek klinikai relevanciája vitathatatlan. Egy ilyen nagy jelentőségű témával foglalkozó értekezés megírása, főleg egy nem alapkutatásban dolgozó klinikus kolléga részéről rendkívül pozitívan értékelendő. Azonban az értekezést áttanulmányozva megállapítható, hogy nem mindenhol érhető tetten az a tudományos igényesség és precizitás, melyet egy ilyen nagy horderejű téma interpretációja megkövetelne. Rendkívül sok kísérleti elrendezést mutat be a jelölt, ami feleslegesen bonyolulttá teszi a tudományos koncepciót, valamint a koherencia és a kísérlettervezés szimmetriája sem figyelhető meg minden esetben. Talán elmondható ilyenkor, hogy a kevesebb több lett volna.

Az értekezés terjedelme 179 oldal, a dolgozat legfontosabb üzeneteit 31 oldalas téziszfűzetben mutatja be. Sajnos az ábrák, különösen a grafikonok megjelenése nem egységes, hiányos vagy hibás. A rövidítések használata sem konzekvens (COX-2, COX₂, OV (kémiai versus OVX) stb.), a szövegben való megjelenésük nem definiált, sok esetben a rövidítések jegyzékéből lehet rájönni a definícióra. Sajnos ezek a hiányosságok nehézkessé tették az olvasást is. A 279 feldolgozott és interpretált szakirodalom segíti az Értekezés eredményeinek bemutatását és kontextusba helyezését. Az Értekezés alapjául 19, nemzetközi tudományos folyóiratban publikált cikk szolgál, amelyekben dr. Várbíró Szabolcs 4-ben első és 8-ban utolsó szerző. Az MTA Doktori Értekezés lezárásakor (2019. augusztus) Hirsch indexe 15, független hivatkozásainak száma 616 volt.



Új tudományos eredményként az alábbiakat fogadom el:

1. Jelentős nemi eltérés mutatott ki a normális vérnyomás mellett a koszorúerekben. Hím patkányokban alacsony az izobarikus falfeszülés normotóniában. Hipertóniában a nőstény patkányok ereiben, „remodelling” figyelhető meg, nő a vaszkuláris rezisztencia, stabilizálódik a vérnyomás és tovább fennmarad a normotóniás szint a hímekhez képest.
2. Hiperandrogén PCOS állatmodellekben igazolta az inzulinra kialakuló vazorelaxáció csökkenését, ami a kisereken D vitamin kezelés hatására javult. A tesztoszeron kezeléssel előállított hiperandrogén modellben és D vitamin hiányban NO-függő módon csökkent az inzulin függő relaxáció a koszorúerekben.
3. A DHT kezelt hiperandrogén modellben megállapította, hogy a NO-függő prehipertenzív eltéréseket a D vitamin kezelés csökkentette a NO-tól független útvonalon.
4. Igazolta, hogy az ösztradiol indukálta vazorelaxáció jelentősen csökkent hiperandrogén környezetben és ezt a D vitamin kezelés nem befolyásolta.
5. Feltárta, hogy hiperandrogén, DHT-idukálta PCOS modellben az eNOS és a COX-2 expresszió növekedett az aorta gyűrűkön, a PARP aktivitás pedig csökkent. Ezzel szemben a leukocitákban és az ováriumban a PARP aktivitás nőtt, ami az oxidatív stressz fokozódására utal.
6. Megmutatta, hogy az ovariectómia fokozta a TXA₂-idukálta kontrakciót és a bradikinin indukálta relaxációt. A krónikus ösztradiol előkezelés hatására az akut ösztradiol kezelés indukálta vazorelaxáció csökkent.
7. Megállapította, hogy a noradrenalin-indukálta tónus a vénákban ovariectómia hatására csökkent. Az ATII indukálta vénás tónus növekedést ovariectomizált patkányokban a hormonpótlás csökkentette.

Kérdéseim, megjegyzéseim az alábbiak:

1. Elmondható, hogy sem az ovariectómia sem pedig a triptorelin nem tekinthető jó menopauza modellnek. Talán az utóbbi helyett jobb lett volna a 4-vinylcyclohexene diepoxidot (VCD) alkalmazni a kísérletekben, mint a kémiai ovariectómia egyik fajtáját, ami jobban modellezi a menopauza kialakulását. A kémiai ovariectómiával kapcsolatban két kérdés merül fel. Mi volt

az oka annak, hogy az ovariectomia mellett ezt is alkalmazták? Hogyan

csökkent ez ösztadiol szint és mi történik a patkányok ösztrusz ciklusával a triptorelin kezelés után?

2. Az állatkísérletek koncepciója (20. oldal 1. táblázat) több esetben nélkülözi a kísérleti elrendezések szimmetriáját. Például nem igazán érthető, hogy intakt nőstény és hím patkányoknál vizsgálták a normotóniás és a hipertóniás állapotokat, ugyanakkor a hiperandrogén modellekben ezt miért nem tették meg? Ugyancsak nehezen érthető, hogy menopauza modellekben normalis vérnyomásnál a véna saphenát, az artéria saphenát és az arteria coronariát vizsgálat alá vonták, azonban az ATII indukált hipertenzióval kapcsolatos kísérletekben csak a véna saphenára terjed ki a vizsgálat.
3. Az immunhisztokémiai protokollok leírása a metodikában nagyon hiányos, például: insulin receptor, D-vitamin receptor, e-NOS, PAR, COX-2 nitrotirozin immunhisztokémia. Mekkora volt a metszet vastagság, milyen szekunder antitesteket és detekciós protokollokat használtak ezeknél az immunhisztokémiai festéseknél?
4. A 29. oldalon az 1. B) ábrán a mikroangiometriás fotó életlenül látszik és hiányzik a kalibrációs egyenes. A 30. oldalon a LAD koronária érrendszer hálózata ugyancsak életlen és nem világos, hogy a nyíl a 6x nagyítású képen mire mutat? Mekkora távolságot reprezentál a kalibrációs egyenes?
5. Miért alkalmaztak kétféle PCOS modellt? A tesztoszteron kezelés végen milyen volt az ovárium hisztológiai képe?
6. A nemi különbségek vizsgálatánál nem világos, hogy a nőstény patkányok az ösztrusz ciklus melyik szakaszában voltak (pl. kontraktilitás vizsgálat)? Hogyan befolyásolhatja ez az eredményeket?
7. A statisztikai vizsgálatoknál legalább az ábra feliratokban jó lett volna feltüntetni az adott csoport elemszámát. Az ANOVA-nál milyen volt az adatok eloszlása kísérletenként és milyen eredményt adott a varianciák homogenitása?
8. A 19. ábra és a szövegben megadott adatok alapján a follikulus átmérők meghatározása nehezen értelmezhető. Pontosan milyen metodikával határozták meg a follikulosok méretét és hogy számolták az átlagot?
9. A 40. ábrán lévő e-NOS adatokat hogyan kapták meg? Hogyan kvantifikálták az e-NOS immunhisztokémiát (pl. mely területekről, mekkora ROI stb.)?



10. A 7. táblázatban lévő PAR immunhisztokémia képei nagyon kis méretűek és a nagy nagyítású inzertek hiányoznak. Mit jelent „a PAR szintek” kifejezés az y tengelyen a 42. és 43. ábrán? Hogyan kvantifikálták?
11. Generálisan megkérdendő, hogy miért nem használtak western blot-ot az expressziós szintek vizsgálatánál (eNOS, PAR, COX-2 stb.)?
12. A 9. táblázatban lévő képeken nem látható a COX-2 expresszió. 10. táblázatban a szövettani képek túl lettek exponálva a nagy nagyítás miatt nem igazán látszik, hogy mi tekinthető immunpozitív jelnek. A 9. és 10. táblázat COX-2 immunhisztokémiai képe redundáns.
13. A 77. és 78. ábrán az x tengelyen pontosan mekkora koncentrációk lettek feltüntetve az ösztadiol és a nifedipin tekintetében?
14. A 99. oldalon leírtak szerint az akut kezelésekben 1, 10, 100 μ M ösztadiol koncentrációt alkalmaztak, ami nagyságrendekkel nagyobb, mint a farmakológiai dózis. Miért?
15. A 68-71. ábra mutatja az D vitamin és az inzulin receptor expressziós szint változásokat. Hogyan nyerték ezeket az adatokat? Mivel nincs jó minőségű fotó az immunhisztokémiai expressziós mintázatról ez az adat még nehezebben értelmezhető.

Összefoglalva elmondható, hogy a főleg beteggyógyítással foglalkozó kolléga temérdek kísérleti munkájának példája ez az értekezés. Természetesen, a jobbító szándékú kritikai megjegyzések és kérdések semmit nem vonnak le az Értekezés tudományos értékéből és a jelölt rátermettségéből. A dolgozat mind tartalmi, mind formai szempontból megfelel az MTA Doktori Értekezésekkel szemben támasztott kritériumoknak. A doktori munka tudományos eredményeit elegendőnek tartom az MTA Doktora cím megszerzéséhez. Az értekezés nyilvános vitára bocsátását és Dr. Várbíró Szabolcs számára az MTA Doktora fokozat odaítélését javaslom.

Pécs, 2020 november 24.

Prof. Dr. Ábrahám István
Igazgató, PTE ÁOK Élettani Intézet
Elnök, PTE Idegtudományi Centrum
Kutatásvezető, Szentágothai János Kutatóközpont
tel: 72 536 243
e-mail: istvan.abraham@aok.pte.hu
web: mn.aok.pte.hu, ic.pte.hu



Hivatalos bírálói nyilatkozat

VÁRBÍRÓ SZABOLCS

A nemi hormonok kardiovaszkuláris hatásai élettani és kóros körülmények között

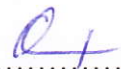
című doktori munkájáról.

A doktori munka tudományos eredményeit elegendőnek tartom az MTA doktora cím megszerzéséhez, a nyilvános védés kitűzését javaslom:

☒ igen

☐ nem

Dátum: 2020.11.24


.....
ÁBRAHÁM ISTVÁN MIKLÓS