

Opponensi bírálói vélemény

Dr. Hegyi Péter

„A pankreász vezetéksejtek élettani és kórélettani jelentősége” MTA doktori értekezésének bírálata

Dr. Hegyi Péter értekezésében az elméleti és az alkalmazott orvostudomány szempontjából jelentős kérdést vizsgál: nevezetesen, mi az élettani illetve kórélettani jelentősége a hasnyálmirigy vezetéksejteknek. Ez utóbbi vonatkozásban a napjainkban is magas halálozású humán pankreatitisz patomechanizmusához kíván adatokat szolgáltatni.

Három területen kutat:

1. Az intracellularis pH meghatározására korszerű adatanalízis metodika kifejlesztése vált szükségessé, amely nélkülözhetetlen a bikarbonát szekréció pontos vizsgálatra,
2. a hasnyálmirigy vezetéksejtek bikarbonát szekréciójának gátló működése,
3. toxikus anyagok (epesavak, vírusok) hatása a pankreász vezetéksejtek bikarbonát szekréciójára.

Bírálói véleményemet az alábbiak szerint terjesztem elő:

1. A doktori munka főbb megállapításai
2. Kritikai megjegyzések
3. Kérdések
4. A doktori munka értékei
5. Új megállapítások
6. Nyilatkozat a doktori munka tudományos eredményeiről és a nyilvános védés kitűzéséről.

1. A doktori munka főbb megállapításai:

A doktori munka 167. oldal a köszönetnyilvánítással együtt. 191 irodalmi hivatkozást, 50 ábrát tartalmaz és 10 fejezetre tagozódik. A munka formailag megfelel a doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeknek.

Az értekezés rendkívül gazdag kérdésfelvetésben, megoldásokban, következtetésben, és új megállapításokban. A Jelölt kidolgozott egy korszerű, új adatanalízis metodikát. A Thomas féle klasszikus fluorescens módszer (Biochemistry 18.2210-2218. 1979) koncepcionális és matematikai átdolgozása érzékenyebbé teszi azt kisebb pH változások pontos detektálására intracellularisan.

Az új kalibrációs metodika mind a rövid, mind a hosszú ideig (>1 óra) tartó kísérletek során alkalmazható a pH_i precíz mérésére. Az új kalibrációs módszer egyebekben eredményként is elkönnyvelhető. A pankreasz vezeték epiteliális sejtjeiben kialakuló változások vizsgálatára alkalmazott módszerek korszerűek. Kiemelem az izolált pancreas duktuszok mikroperfúzióját, amely alapvetően biztosította a vezeték epiteliális sejtjeinek célzott vizsgálatát.

Az SP feltehetőleg a szekretin fokozta HCO_3^- szekréció mechanizmusán keresztül gátol, ebben összegezhető az 5.2. fejezet, amelyben a substance P (SP) hatása a pankreasz vezetéksejtekre kerül vizsgálatra. A logikusan tervezett kísérletsorozatban a Jelölt először immunhisztokémia segítségével az SP jelenlétét bizonyítja a kis duktuszok mellett lévő periduktuláris idegekben. A Jelölt megállapítja, hogy az SP Cl^- függő HCO_3^- transzport folyamat révén gátol. A protein kináz (PKC) aktivációja az SP-hez hasonlóan a HCO_3^- szekréció növekedést vált ki, a PKG gátlása viszont az SP gátló hatását csökkenti. Végezetül a Jelölt megállapítja, hogy az SP és a PKG aktiválás a lumenális anion cserélő transzporter gátláshoz vezet. Az SP bikarbonát szekréció gátlás H₂ DIDS érzékeny anioncserélő transzporterén keresztül érvényesül.

Az epesavakkal végzett kísérleteiből a Jelölt arra a következtetésre jut, hogy a GCDC (glikokenodezoxikólsav: nem konjugált epesav) magas dózisban a sav-bázis transzportereket gátolja a pankreasz dukális epitel sejtekben. A konjugált epesavaknak nincs ilyen hatásuk. A nem konjugált epesavak mitokondriális károsodást okoznak ATP szint csökkenéssel, ami anion transzport funkció csökkenést eredményez. A virulens vírusfertőzésnek az epitelsejtek HCO_3^- szekrécióra jelentős, szekréciót növelő hatása van a kísérleti bizonyítékok alapján.

2. Kritikai megjegyzések, kérdések:

A kiváló munkában meghökkentő apró pongyolaságok fordulnak elő. Manapság a digitális javító – ellenőrző programok birtokában nem fogadható el a hasnyálmirigyről szóró briliáns munkában az alábbi elírás:

- * 29. oldal „pankresz” (sic),
- * 30. oldal „pankreatiszt” pankreatitist helyett,
- * a 9 ábra szövege hibás: az utalás nem a 8., hanem a 9. ábrára vonatkozik,
- * nem érthető, csak sejthető mit jelent a 61. oldalon „a kísérletek egymásba esnek”,
- * fogalmi zavar van az „étkezés” és az „emésztés befejezte között”. (összefoglaló: 8. oldal 18 sor, 11 oldal 9 sor),
- * az irodalmi adatok a helyükön vannak. Meg kell jegyezni, hogy meglepően sok a régi, múlt századi „poros”-nak tűnő irodalmi adat, ami a téma specifikus voltából, meg a teljességre való törekvésből adódhat, ha viszont így van, akkor hiányolom a magyar kutatókra való hivatkozást (Papp M., Papp Á., Szűcs A.).

3. Kérdések

- * A HCO_3^- szekreció reguláció vonatkozásában miért nincs említés a proteáz aktiváló receptor 2-ről (Alvarez, Surgery 2004. 136; 669-676).
- * Van –e szerepe a Cajal-féle intersticiális (pacemaker) sejteknek a Jelölt által vizsgált változásokban? (Wang, PANCREAS. 2011. 40; 137-143)
- * Bármely experimentális munka alapvető eleme a megbízható módszer. A Jelölt vizsgálódása főként izolált, tengerimalacok hasnyálmirigyéből származó intra- és interlobularis duktuszokon történik. Feltűnően rövid a módszer leírása, nem világos, hogy a 3. ábrán bemutatott képen hányszoros a nagyítás és miért nem saját mikrofotót közölt a Jelölt.
- * A hivatkozott 3 ábrán látható képek Argent B.E., Arkle S., Cullen MJ and Green R.: Morphological, biochemical and secretory studies on rat pancreatic ducts maintained in tissue culture. Q.J Exp Physiol 71: 633-648, 1986. közleményből származnak.

Van-e a Jelöltnek engedélye a közlemény szerzőitől a képanyag ilyen jellegű felhasználására? Helyénvaló-e 2011-es doktori munkában 1986-ból származó, nem saját képeket bemutatni az alapvető módszer illusztrálására?

* A pankreasz ductuszok mikroperfúziója a doktori munka másik alapvető módszere. A módszer leírása feltűnően rövid, mondhatni hiányos. A perfúzióhoz használt külső, tartó pipetta és a belső, perfúziós pipetta milyen anyagból készült? Milyenek voltak a méretei? Ki készítette? Hogyan lehetett az átmérőt standardizálni? A levágott végű ductuszt mekkora értékű vákuumon szívták a tartó pipettába? Hány% volt a károsodás? Volt-e elmozdulás, a tartó pipettából való kicsúszás a perfúzió során? Hogyan bizonyította a Jelölt, hogy élő epitelsejtű ductuszokat perfundál?

* A humán, heveny pankreatitisz kialakulása során nagyszámú kórélettani mechanizmus aktiválódik, (l. gyulladásos kaszkád) ezért az intracellularis vagy molekuláris target terápia várat magára. A Jelölt kimutatta a glükolitikus és oxidatív ATP szintézis depleció következtében észlelhető alacsony ATP szintet. Van-e terápiás vonzata ennek a megállapításnak, esetleg vannak-e humán klinikai adatok?

4. A doktori munka értékei:

A pankreasz ductuszok epitel sejtjei élettana és kórélettana szempontjából meghatározó, alapvető, nemzetközi szintű, bizonyítékokon alapuló munka. A vizsgálatok eredményei és megállapításai a humán akut pankreatitisz kórélettana és patomechanizmusa szempontjából is kiemelendően fontosak, még akkor is, ha a következtetések állatkísérletekből származnak. A mű kérdésfelvetései aktuálisak, az alkalmazott módszerek korszerűek. A kísérletek megtervezése briliáns, logikus, a bizonyítási eljárások hibátlanok, a következtetések bizonyítottak, újak, mértéktartóak. A doktori munka hemzseg az új megállapításokban. Külön érdem, hogy a Jelölt a doktori munka lezárását követő vizsgálatokról és kísérletekről is beszámol, ami záloga a további eredményeknek.

Figyelemreméltóak a szcientometriás adatok:

- Az elmúlt 10 év átlaga: 142.47
- Ph.D utáni közlemények impakt faktor összege: 140.008

Összefoglalva a doktori munka érdemeit: a mű jelentős értekezés, amely a magyar orvostudományi kutatás egyik dicsősége.

5. Új megállapításként fogadom el a következőket:

- * Az SP gátolja a pankreasz vezeték epitelsejtjeinek dukális bikarbonát szekrecióját és gátló hatását a neurokinin receptorokon keresztül fejt ki.
- * Az SP-nek nincs hatása a bazolaterálisan elhelyezkedő $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ kotranszporterre és a Na^+/H^+ kicserélő transzporterekre, viszont a luminalisan elhelyezkedő DIDS szenzitív anioncserélő transzportert direkt úton gátolja
- * Az SP PKC aktiváción keresztül fejt ki gátló hatását.
- * A luminalisan vagy bazolaterálisan alkalmazott nagy dózisú, nem konjugált epesavak gátolják a pancreas vezetéksejtek bikarbonát szekrecióját és intracellularis Ca^{2+} emelkedést hoznak létre, de a kettő nincs összefüggésben egymással.
- * A nagy dózisú, nem konjugált epesavak csökkentik az intracellularis ATP koncentrációt, mert gátolják mind az oxidatív, mind pedig a glükolitikus ATP szintézist.
- * A nagy dózisú konjugált epesavaknak nincs hatásuk a bikarbonát szekrecióra, nem toxikusak a mitokondiumokra és az intracellularis ATP-t reverzibilisen csökkentik.
- * A nem virulens pszeudorabiesz vírusok bejutnak a pankreasz duktuszok sejtjeibe, de nem befolyásolják a bikarbonát szekreciót, viszont a virulens herpesz vírusok stimulálják a pankreasz vezetéksejtek bikarbonát szekrecióját.

6. Nyilatkozat a doktori munka tudományos eredményeiről és a nyilvános védés kitűzéséről:

A kitűnő, magas tudományos szintű, új megállapításokban gazdag munka eredményei messze elegendőek a MTA doktori cím megszerzéséhez, és a nyilvános védés kitűzését javaslom.

Budapest, 2011. január 14.

Prof. dr. Jakab Ferenc
az orvostudomány doktora
(MTA doktora)
egyetemi tanár