

Vélemény

Dr. Deli Mária Anna

Vér-agy gát modellek létrehozása, jellemzése és alkalmazása orvos-biológiai kutatásokban.

c. MTA doktori értekezéséről

A jelölt munkájában a biomedicinális kutatások egyik előtérben álló területévé foglalkozik, melynek eredményei széles körben hasznosíthatóak az agykutatástól a klinikai rutinin keresztül a gyógyszerfejlesztésig. Újszerű adatok gyűjtéséhez korszerű morfológiai, fiziológia, molekuláris biológiai és in-vivo módszerek széles tárházát alkalmazza jelentős mértékben saját módszerfejlesztéssel.

A 109 oldalas értekezéséhez 13 oldalas irodalomjegyzék csatlakozik. Az értekezés igényesen kivitelezett, szép formátumú. Mondanivalóját 99 informatív, tetszetős, jórészt színes ábra támogatja. Az értekezés elején található rövidítések jegyzéke jelentősen megkönnyíti a nagyszámú, gyakran speciális, vagy egyedi rövidítések értelmezését. Az értekezés logikusan felépített, stílusa gördülékeny, nyelvtani hibáktól gyakorlatilag mentes. Ahol az értehetőség megengedi, a szerző következetesen magyar szak-kifejezéseket használ. Az értekezéshez 27 oldalas tézis-füzetet csatolt, ami az értekezés témáját jól, arányosan foglalja össze.

A bevezetésben szépen demonstrált, átfogó elemzést ad az vér-agy gát felépítéséről és működéséről alkotott eddigi elképzelésinkről. A kutatási célok összefoglalása után részletesen leírja az értekezésben leírt kísérletekben használt módszereket. Bár a módszerfejlesztés a jelölt pályafutásának jelentős és komoly gyakorlati fontosságú része, a módszertani leírás az értekezésnek az optimálisnál nagyobb részét foglalja el a módszerrel kapott eredmények és azok megbeszélésének rovására.

Eredményeit három fejezetben ismerteti: leírja és részletesen jellemzi a vér-agy gát sejttenyésztes modelljével kapott eredményeit, vizsgálja a modell segítségével a vér-agy gát károsodásának és védelmének mechanizmusát, majd leírja a modell lehetőségeit a gyógyszerfejlesztésben.

A jelölt jelentős részben saját munkán alapuló módszertani fejlesztések során az új módszereket igen gondosan és körültekintően standardizálta, paraméterezte. Kísérleteihez részben primer sejt kultúrákat, részben tenyésztett sejteket használt.

Modellje segítségével a vér-agy gát károsodásának mechanizmusát és ezek kivédésének lehetőségeit tanulmányozta. Kísérletes károsító tényezők között Mikrobiális patogéneket (LPS, TNF, HIV-fehérje, toxoplasma gondii), az agyi ischaemia során fellépő oki tényezőket és a kivédésére használ gyógyszereket (szabad oxigén gyökök, glutaminsav, plazminogén, hipoxia, pitavasztatin), valamint a neuro-degenerációban szerepet játszó tényezőket (prion-peptid, amiloid-peptid) használja.

Végül bemutatja, hogyan lehet modelljét vér-agy gáton átjutó gyógyszerek fejlesztésére használni.

Az értekezést a kísérletek során nyert adatok összefoglalása, majd az irodalomjegyzék zárja.

Megjegyzéseim, kérdéseim:

Egyre szélesebb körben elfogadott nézet szerint sejtosztódásra a génállományukban sérült daganatsejteken kívül csak a differenciálatlan őssejtek illetve a differenciálódás korai stádiumában lévő progenitor sejtek képesek. Differenciált sejtek osztódásra képtelenek, károsodásukkor a sérült sejteket őssejtek, vagy progenitor sejtek pótolják. Ez az elv érvényes túlélő sejtek, szövettényészetek esetén is. Emiatt állnak a „standard” sejt vonalak daganatsejtekből, és jó okunk van azt hinni, hogyha primer sejt kultúra sejtjeit „immortalizálni” tudjuk, az vagy csak őssejteket tartalmaz, vagy a manipuláció során a sejteket komoly genetikai károsodás érte és daganatsejteket „készítettünk”. Mindkét esetben a sejtek tulajdonságai távol állnak a fiziológiás, differenciált sejtektől, így a segítségükkel nyert adatokat igen óvatosan kell kezelni. Az élettanihoz legközelebb álló adatokat ezek értelmében csak legtöbbször erősen korlátozott élettartamú primer sejt kultúrákból lehet nyerni.

Szintén széles körben elfogadott, hogy a periciták őssejtek. A mindenhol előforduló kapillárisok környezetében kialakult szöveti sérülések esetén ezek pótolják a sérült szöveteket a biológiai környezetnek megfelelő sejtekké differenciálódva. A leírt kísérletekben az endothel sejtek „szaporodását” az ott lévő periciták differenciálódásának tartom. A jelölt számos kísérleti adata is olvasatomban ezt támasztja alá. Ennek ismeretében a jelölt periciták elleni küzdelmét átértékelném. Ugyanezen okokból körültekintően használnám az endothel és

gliasejtek tenyésztése kifejezést is. Ezzel magyarázom – többek között – a 46. oldalon leírt eredményeket is.

Igen érdekesnek tartom a prion- és amyloid fehérjékkel végzett kísérleteket, Annak ellenére, hogy a kísérletekkel nyert nagyszámú adatból egyelőre nem lehetett egyértelmű következtetéseket levonni a prion- és amyloid fehérjék által kialakított kórképek mechanizmusára, a vizsgálatok esetleges folytatása mélyebb bepillantást engedhet nemcsak a ritka prion-betegségek patomechanizmusába, hanem – bizonyos adatok alapján – esetleg az Alzheimer betegségébe is. Tervezi jelölt folytatni ez irányú kísérleteit?

Érdekel, hogy a jelölt hogyan magyarázza azt, hogy az vér-agy gáton túljutott prion és amyloid fehérjék által kialakított kórképet az vér-agy gáton át nem jutó pentozán kivédi? Hogyan értelmezi az erre vonatkozó az „endothel sejten keresztül” megállapítását?

Bár a jelölt az értekezés végén két és fél oldalban összefoglalja az értekezésben leírt kísérletek eredményeit, de az inkább felsorolás jellegű. Hiányolok egy olyan, célszerűen ábrával/ábrákkal alátámasztott összefoglalást, amely leírja, hogy melyek azok a vér-agy gáttal kapcsolatos biológiai mechanizmusok, melyeket a jelölt munkásságának eredményeképpen ismertünk meg.

Formai megjegyzés: néhány ábra magyarázatából nem egyértelmű a kísérleti összeállítás. Például a 44. ábra magyarázata 16 órás LPS kezelés utáni állapotra utal, ugyanakkor az ábrán ennél korábbi adatok is láthatók.

A jelölt eredményeiből **újszerűnek** tartom

- Egy gondosan, körültekintően kialakított, alaposan ellenőrzött *in-vitro* modellt dolgozott ki, mely lehetővé teszi a vér-agy gát normális és kóros működésének célzott vizsgálatát.
- Újszerű eljárást dolgozott ki endothel sejt kultúra tisztítására.
- A modell birtokában átfogó vizsgálatokat végzett bioaktív molekulák, az intracelluláris jelátviteli utakra célzottan ható vegyületek, valamint patogének segítségével, melyből az vér-agy gát normális és kóros működésének molekuláris mechanizmusára következtetett.
- Kimutatta, hogy a SAP (szérum amyloid P) csökkenti a vér-agy gát áteresztését, ezáltal csökkentve többek között a bakteriális lipopoliszacharidok toxikus hatását.
- Igazolta a HIV vírus-fehérje vér-agy gát permeabilitás növelő hatását, ami az idegrendszeri fertőzés egyik faktora lehet.

- Kimutatta monociták és dendritikus sejtek szerepét protozoonok vér-agy gáton történő átjutásában.

Összefoglalásul: a jelölt értekezésben összefoglalt munkája nagymennyiségű, igényes munkával, jelentős módszerfejlesztéssel gyűjtött, elsősorban *in-vitro* sejtbiológiai adatot szolgáltat, melyek jó kiindulópontjai lehetnek célzott funkcionális vizsgálatokhoz, az értekezésben felvetett hipotézisek bizonyításához. Bár a biológiai modellek, különösen az olyan komplex rendszerek, mint az vér-agy gát *in-vitro* modellezésének eredményeiből csak igen óvatosan lehet *in-vivo* is érvényes következtetéseket levonni, a leírt modellt igen körültekintően állították össze és tesztelték, így eredményei jól használhatóak célzott *in-vivo* vizsgálatok tervezéséhez. Emiatt a fenti észrevételek ellenére a jelölt munkájának nyilvános vitára tűzését és a mű elfogadását javaslom.

Dr. Csernus Valér
egyetemi tanár
az MTA doktora