

Bírálóí vélemény

Pongrácz Judit Erzsébet:

**„Szöveti fejlődést, regenerációt, öregedést és patológiás elváltozásokat szabályozó intra- és intercelluláris jelátviteli folyamatok vizsgálata egér és humán immunszöveti modellekben”
című MTA doktori értekezéséről**

A doktori értekezés alapjául 14 angol nyelvű, eredeti közlemény (összesített impact factor: 57,951), valamint 4 összefoglaló közlemény (összesített impact factor: 16,335) szolgál, amelyekre a szerző összesen 994 független idézetet kapott. Ezek az adatok világosan mutatják, hogy a szerző témaválasztása időszerű, munkája nagy tudományos érdeklődést váltott ki. Értekezésében két sejten belüli jelátviteli útvonal, a protein kináz C és a Wnt által közvetített, sokrétű szabályozás alatt álló jelpálya működését vizsgálja biokémiai, molekuláris biológiai és sejtbiológiai módszerekkel. A sejten belüli biokémiai változások vizsgálatát sikeresen kapcsolja össze a szöveti funkciók és patológiás elváltozások kutatásával, amelynek során a tímusz fejlődése alatt zajló jelátviteli folyamatok fiziológiás következményeivel foglalkozik.

A dolgozat az irodalomjegyzékkel együtt 116 oldal terjedelmű, ezt követik az értekezés alapjául szolgáló közlemények különlenyomatai. A rövid Bevezetést a 20 oldalas irodalmi áttekintés követi, amelyben a szerző a differenciálódást szabályozó molekulacsáládok bemutatása után ismerteti az immunrendszer sejtjeinek fejlődését, a PKC és a Wnt által közvetített jelátvitelt és a kettő összefüggéseit, valamint a tímusz fiziológiájában betöltött szerepüket. A Célkitűzések rövid bemutatása után, listaszerűen felsorolt pontok furcsán hatnak, mintha az „Eredmények és megbeszélésük” fejezet egyes fejezet- alfejezetcímei lennének. Következik az „Anyagok és módszerek fejezet, amely 10 oldalon mutatja be az alkalmazott metodikák hatalmas tárházát. A módszerek részletes leírása a közleményekben történik meg, de ebben a fejezetben is képet kaphatunk a szerző rendkívül széleskörű biokémiai, molekuláris- és sejtbiológiai valamint immunológiai módszertani jártasságáról. Az „Eredmények és megbeszélésük” fejezet 45 oldal, itt kerül ismertetésre az érdemi munka, amely nem bontja feleslegesen, az egyes közleményeknek megfelelő módon részekre ezt a fejezetet, hanem éppen az egyes munkák közötti összefüggéseket hangsúlyozza; szépen mutatva a kutatás ívét a PKC jelátviteltől a tímusz fejlődésén keresztül a tímusz atrófia

vizsgálatáig. A 2 oldalas összefoglalás után az eredmények nem elhanyagolható gyakorlati jelentőségét ismerteti, amelyet három szabadalmi beadvány is alátámaszt.

A dolgozat kiváló példája annak, hogy az átgondolt, magas színvonalú alapkutatás hogyan juthat el az eredmények gyakorlatban történő alkalmazásához.

A dolgozatot az Irodalomjegyzék, a követelményeknek megfelelően összeállított Közlemények listája, majd a felhasznált Különlenyomatok bekötött példányai zárják. A közlemények listájánál az eddig logikus számozás kissé felborul, a fejezet 9. helyett 1-gyel kezdődik, majd az 1.2 alfejezetet a 9.3. követi.

Ettől eltekintve a dolgozat szépen összeállított, értékes munka, elütéseket elvértve tartalmaz, a formai követelményeknek mindenben megfelel.

Nyelvhasználata a magyar nyelv szabályainak megfelel, olvasmányos stílusban íródott; néhol szükségtelenül alkalmaz idegen szavakat (pl szortolás).

Megjegyzéseim, kifogásaim a következők:

1. A dolgozat címével kapcsolatban szeretném megjegyezni, hogy a humán immunszöveti modellek nem igazán szerepelnek benne, a sejtvonalakat és a neutrofileket nem tekinteném annak.
2. Nem találtam rövidítésjegyzéket, ami még a témában jártas olvasónak is hiányzik különösen egy jelátvitellel foglalkozó dolgozatban.
3. A Tézisfüzetben nincs feltüntetve, hogy az egyes kísérletek részletesen mely közleményben tekinthetők meg. A dolgozatban ez már fel van tüntetve, de csak csak a két első szerző nevére és az évszámra való hivatkozással. Szerencsésebb lett volna az oldalszámot is megadni, ahol az adott közlemény megtalálható.
4. Az 1. ábra forrása nincs megadva.
5. A 19. ábrán jó lett volna bemutatni a mintafelvitel egyenlőségét mutató kontrollsorozatot, valamint a citoszol/membrán frakciók tisztaságát jelző kontroll mintákat, amelyek az adott helyen biztosan kifejeződő fehérjéket mutatnak ki.
6. A 21. ábra felirata szintén hibás: a B panelen több helyen szerepel TPA felirat az fMLP helyett.
7. A 32. ábra E és F panel Y tengelyfelirata azonos, mindkettő a CD4+CD8- sejtek számát mutatja (a közleményben helyesen szerepel).

8. Ugyanennek az ábrának a leírásában szerepel: „anti-egér rodamin” – ez nem pontos kifejezés, valószínűleg anti-egér IgG rodammal jelölt konjugátumát jelenti.
9. A 68. oldalon az első sorban egy hivatkozás hiányzik a zárójelből
10. A 40. ábrán a timocita alcsoportok felirata végig azonos, ez a közleményben helyesen van feltüntetve. Jó lett volna feltüntetni az ábrákon egy-egy panelen egymás mellett látható minták közötti különbséget: ez gondolom különböző ciklusszámokat jelent. Ugyanez vonatkozik a 41. és 42. ábrákra is.

Az értekezés új eredményeiként a következőket fogadom el:

1. A szerző és munkatársai megállapították, hogy a PKC család tagjainak hasonlósága és funkcionális redundanciája nem teszi lehetővé, hogy a PKC aktivitás manipulálása terápiás célpontként szolgáljon
2. Kimutatták, hogy a Notch és a Wnt jel pályák és kölcsönhatásaik fontos szerepet töltenek be a T sejtek tímuszon belüli fejlődésének szabályozásában, és a tímusz mikrokörnyezetének kialakításában is.
3. Kimutatták, hogy a fejlődő timociták TCR-től és MHC-től függő szelekciós jelei módosítják a különféle TCR-rel rendelkező sejtek túlélési folyamatait.
4. Rekombináns retro- és adenovírusok segítségével eljárást dolgoztak ki a tímusz epitélium sejtfelszíni molekula-repertoárjának módosítására. Leírták, hogy a környezet ill. a receptor-ligandum kölcsönhatások megváltozása vezethet a TCR-től származó apoptotikus jelek módosításához, ami megváltoztatja perifériás TCR repertoár összetételét.
5. Elsőként írták le, hogy a az öregedő tímuszban az adipoid atrofíát a tímusz epitél de-differenciálódása okozza, amely epitél - mezenchimális tranzícióval és zsírszövetké történő átalakulással jár. A Wnt4 szint csökkenése ebben fontos szerepet játszik, A Wnt4 expresszió szinttartásával megakadályozható a tímusz involúcióra jellemző molekuláris változások megindulása. A folyamatot ellenőrző komplex jelátviteli szabályozást elsőként jellemezték. Kutatásaik új alapokra helyezték a tímusz adipoid atrofíájának molekuláris hátterét.

Kérdéseim:

1. A szuperoxid termelést kiváltó TPA és fMLP hatását összehasonlító közleményben a azt mondja, hogy a PKC inhibitor Bis és GO6976 csak a TPA közvetített termelést gátolja, az fMLP által kiváltottat nem. Lehet-e ennek oka az, hogy az fMLP a PKC-től független jel pályán keresztül is kifejtheti hatását? (Biochem J 2004. 377:469)

2. Mennyire releváns fiziológiailag a ConA-val való sejtaktiválás, mennyire mérhető össze a fiziológiás „nagy affinitású” jellel? A ConA nem a TCR-en keresztül kötődik, nincs specifikus receptora, számos mannóz tartalmú molekulához kapcsolódhat és az által indukált jelpálya eltér a TCR-étől. Így teljesen más útvonalon fejtheti ki túlélési jeleket indukáló hatását, ahogy a szerző később ezt bizonyítja is. Az anti-CD3e által közvetített túlélést a vártnak megfelelőek gátolta a PI3K inhibitor, míg a ConA kiváltotta túlélő jelet csak a savas sfingomielináz inhibitor gátolta. Ennek megfelelően a ConA kezelt mintákban PI3K független, ceramid-függő túlélőjeleket feltételez. A munka befejezése óta fény derült-e erre a különös mechanizmusra?

Megjegyzéseim és kérdéseim természetesen semmit nem vonnak le a disszertáció értékéből, amelyet rendkívül sokrétű, hatalmas metodikai repertoárt felvonultató, színvonalas munkának tartok. A szerző és munkatársai által bevezetett új kísérletes módszer lehetővé teszi a jelátviteli folyamatok következményeinek *in vitro* sejtszintű vizsgálatát.

A dolgozat jelentős, új tudományos eredményeket mutat be, hiteles adatokat tartalmaz. Javaslom a dolgozat nyilvános vitára való bocsátását és sikeres védelem esetén az MTA doktora fokozat odaítélését messzemenően javaslom.

Sármay Gabriella
az MTA doktora
egyetemi tanár
ELTE Immunológiai Tanszék

2013. február 28.