

Válaszok Dr. Virág László bírálatára

Általános megjegyzések

Köszönöm a Bírálónak a dolgozattal kapcsolatos észrevételeit, és külön köszönöm hogy kiemelte az új megállapításokat. A formai szempontok szerinti kritikájával egyetértek, noha célom volt hogy a munka magyar szaknyelven, jól olvashatóan íródjon és ne a cikkek szolgai fordítására hagyatkozzon, mégis maradtak benne angolos megfogalmazások. Az előszóban és az erre épülő téziszfüzetben külön figyelmet fordítottam arra, hogy a teljes munka jól követhető keretben legyen bemutatva.

Válaszok a részletes bírálatra

1, A szabad gyökökkel és reaktív intermedierekkel foglalkozó fejezetekben tudatosan nem használtam a ROS és RNS kifejezéseket. Ahogy a bíráló is megjegyzi, többnyire „oxidánsok” kifejezéssel írtam körül a reaktív intermediereket, annak ismeretében hogy ez nem minden ROS/RNS specieszre és nem minden körülményre igaz. Viszont éppen annak érdekében, hogy a dolgozat magyar szaknyelven íródjon, igyekeztem kerülni olyan rövidítéseket, amelyek angol eredetűek és csak a szűkebb szakma ismeri őket - a ROS/RNS rövidítés nem egyértelmű megfeleltetéssel jelöl vegyületeket, ezért a könnyebb olvashatóság kedvéért elhagytam.

2, Élő anyagban az NO termelést legjobban valóban fluoreszcens festékkel lehet mérni, ezért mi is elsősorban erre hagyatkoztunk eleinte. Azonban hamar kimutattuk a technikai kontroll kísérletekben, hogy a festékek a gyártó állításával ellentétben nem elsősorban NO-val, hanem valószínűleg N_2O_3 -mal reagálnak leginkább, amely az NO és az O_2 reakciójaként jön létre. A fluoreszcens kísérletek eredményét a későbbi cikkekben ezért már így diszktutáltuk, illetve egy részletes módszertani cikket is közzeltünk amely az NO-dependens fluoreszcens festékek reakcióit helyezi előtérbe. Más NO detektáló módszereket is használtunk, konkrétan a hagyományos radioaktív arginin-citrullin mérést a NOS enzim aktivitásának mérésére, gyökfogókkal és elektron paramágneses rezonancia detektálással pedig a szabad $NO\cdot$ molekulákat. Ezen mérések megerősítették a fluoreszcens eredményeket.

3, Köszönöm a felvetést, az említett kísérletben a SIN-1 minden bizonnyal ONOO⁻-et generált, különben a DAF festék felvette volna a jelet.

4, Az eredmények megbeszélésekor általánosságban az ADP-ribozilációt említettem, amely természetesen lehet mono-ADP és poly-ADP riboziláció, egymástól igen eltérő eredménnyel. Mivel azonban a kutatás egyik igen meglepő, új eredménye az volt, hogy a KGDH komplex is képes poli-ADP ribozilációt létrehozni a mitokondriumban, ezért számításba kellett venni minden olyan lehetséges enzimet vagy enzimkomplexet, amely hasonló szubsztrátokkal, hasonló reakcióra képes lehet. Ezen mitokondriális

enzimrendszerek meglehetősen széles specificitással rendelkeznek, tehát elképzelhető, hogy bizonyos körülmények között, akár gyenge termelékenység mellett is, de képesek többféle ribozilációs lépést katalizálni.

5, Köszönöm a felvetést, valóban reális feltételezés, hogy az általánosságban a leukocitákban detektált PAR jel elsősorban a mononukleáris sejtekben koncentrálódik, hiszen ezekben ismert a PARP enzim jelenléte.

6, A kidolgozott és publikált formuláció még azóta jelentős változásokon ment keresztül, amely tovább segíti a potenciális klinikai alkalmazást. Mivel jelenleg tudomásom szerint nincsen lokálisan ható NO donor készítmény a terápiás palettán, de számos tudományos kísérlet mutatott ki kedvező eredményeket, ezért a mikrocirkuláció javításán kívül más indikációk is szóba jöhetnek. Konkrétan a szkleroderma terápia-rezisztens esete egy lehetséges célpont. Más hatásmechanizmussal, de jó esély van rá, hogy a GSNO alkalmas lesz a diabéteszes láb szindróma neuropátiás fájdalom tünetének enyhítésére is, mivel erre több más NO donorral végzett kísérlet is utal. Elképzelhető még a hajas fejbőrön az androgén hajhullás ellenszereként is, bár az erre vonatkozó irodalmi adatok többféleképpen is értelmezhetőek.

7, Gyakran visszatérő tudományos kérdés a sejterápiában, őssejt-kutatásban a felhasznált sejtek minél pontosabb karakterizálása. A jelen kísérletekben a leggyakrabban használt, ezért az irodalmi adatokkal legjobban összevethető markereket vizsgáltuk a teljesség igénye nélkül. Ennél pontosabb karakterizálást, sőt igazából még ennyit is sok esetben feleslegesnek tartok, mivel a terápiás felhasználásban nincsen igazán alternatívája az endogén, frissen izolált, csontvelő eredetű, minden manipulációtól mentes, primér sejteknek - ez az amiről tudjuk, hogy nagy biztonsággal beadható, reprodukálhatóan előállítható és az ezzel járó többlet munka és költség még elfogadható szinten van. Célszerűen ezért jobb azzal jellemezni a sejteket ahogyan izoláljuk őket, nem pedig sejtfelszíni markerekkel. A másik ok, ami miatt a pontosabb karakterizálást kerüljük az az, hogy ezen populáció minden bizonnyal kevert, többféle sejttípust is tartalmaz. Több kísérletben is kimutatták, hogy monoklonális, tehát tiszta sejtvonalakkal gyengébb eredményt lehet elérni, mint poliklonális, kevert, de frissen izolált sejtekkel.

Ismételten köszönöm Dr. Virág Lászlónak a dolgozat alapos kritikáját és segítő megjegyzéseit, kérdéseit.

2013. 06. 07.



Dr. Lacza Zsombor