

Bírálati Vélemény

Dr. Lacza Zsombor

MTA Doktora címért benyújtott értekezéséről

Dr. Lacza Zsombor nehéz feladatra vállalkozott: három - meglehetősen különálló területen elért - eredményeit egy doktori disszertációban egyesíteni. A mitokondriális ATP vezérelt káliumcsatornák, a mitokondriális nitrogén monoxid (NO) termelődés és a sejtvédő sejtterápia nevezhetők meg, mint szerteágazó kutatásainak témái, melyeket az *„Iszkémiás károsodás csökkentése a mitokondriális funkció befolyásolása által”* címmel kapcsol össze. A disszertációt megalapozó 24 közlemény 5 - 14 - 5 arányban oszlik meg a három terület között, jelezve, hogy a disszertáció gerincét a mitokondriális NO termelődés problematikája teszi ki.

A disszertációról, mint írásműről

Szerkezeti felépítés

A disszertáció egy bő 7 oldalas, személyes hangvételű előszóval indul, mely végigvezet a jelölt szakmai életútján, indokolja a kívülálló számára élesnek tűnő tématerület-váltásokat, és keretbe foglalva összeköti a különböző témákban kapott eredményeket. Egy három és féloldalas bevezetést követően 30 oldalas „Irodalmi áttekintést” és egy 10 oldalas leírást kapunk az alkalmazott „Anyagok és módszerek”-ről. Az eredményeket 46 oldalon mutatja be, 17 oldalon át értelmezi (diszkutálja), majd 2 oldalon tézisszerűen is megfogalmazza az új eredményeket és következtetéseket. Némi kuszaság volt tetten érhető a fejezetek összeállításában: egyrészt már az előszóban és a bevezetésben is megjelennek a disszertáció tárgyát képező eredmények diszkussziójaként felfogható bekezdések, másrészt a „Bevezetés” helyett a „Diszkusszió”-ban találjuk meg pl. a NOS izoformák alapvető jellegzetességeinek bemutatását.

Stílus és nyelvezet

A disszertáció nyelvezete meglehetősen heterogén. Nagyszámú kifejezés – közkeletű magyar megfelelő létezése ellenére is - angolul maradt a szövegben, az ábrákban sokszor vegyes (angol és magyar) feliratok keverednek, és idegenül hangzó megfogalmazásokkal is sokszor találkozhat az olvasó (pl. lokáció, PAR formáció, konfirmálás, identifikáltuk, PARálás/PARált, mikroszkópos vizualizáció, „az enzim teljes mértékben dependens volta a calmodulinon”, stb.).

Ábrák és ábrafeliratok

Az ábrák vonzó, esztétikus megjelenésűek. A diagramokról viszont többnyire hiányoznak a szignifikancia jelzései, és az ábrafeliratok sem tartalmaznak elegendő információt a bemutatott eredmények önálló értelmezéséhez. Ezt a hiányosságot többnyire a főszövegből pótolja az olvasó, de abban az esetben, ha az ábra néhány oldallal hamarabb jelenik meg, mint ahogy azt a főszöveg tárgyalja, a megértésért meg kell dolgoznia a bírálónak. A 28. ábra feliratának helyén a 25. ábra feliratát találjuk.

Új tudományos eredmények

1. Igazolták a Kir6.1 és Kir6.2 mitoK_{ATP} alegységek és egy újszerű szulfanilurea kötő alegység jelenlétét a mitokondriumban.
2. Igazolták a 3 „kanonikus” NOS enzim általános előfordulásának hiányát a mitokondriumokban.
3. Leírtak egy PARP-szerű aktivitást GSNO-val kezelt mitokondriumokban, melyet a KGDH DLDH alegységének újszerű aktivitásaként azonosítottak.
4. Leírták az érrendszerben megfigyelhető Tyr nitrálás és a szénhidrát-anyagcsere zavar súlyossága közötti összefüggést.
5. Új GSNO formulációt fejlesztettek ki vazodilatációs terápia céljából.
6. Igazolták a respiráló mitokondriumok fontosságát a citoprotektív sejterápiára használt sejtekben.

Kérdések és megjegyzések

1. A szabad gyökökkel és reaktív intermedierekkel foglalkozó disszertációban – meglepő módon - nem fordul elő a ROS és RNS kifejezés. Helyette többnyire „oxidánsok” kifejezéssel illeti a szerző a reaktív intermediereket, holott ez nem minden ROS/RNS specieszre és nem minden körülményre igaz (pl. szuperoxid anion sokszor redukál).
2. A mitokondriális NO eredetére vonatkozó kísérletek a DAF fluoreszcencián alapulnak, mely kevésbé tekinthető NO-ra specifikusnak, és enzimatis reakciókban (pl. H₂O₂+ peroxidáz) is különböző fluoreszcens termékek keletkezhetnek a festékből (Rümer és mtsai., Nitric Oxide. 2012 Aug 15;27(2):123-35.). A 72. oldalon leírt és a 10. ábrán bemutatott eredményekből (mely szerint sem az arginin sem az arginin analóg L-NMMA/L-NAME nem hat a DAF jelre) gyakorlatilag kizárható egy kanonikus NOS enzimhez hasonló forrás szerepe vagy – ami még valószínűbb – a fluoreszcens DAF jel NO-tól függő eredete is. Ezt támasztja alá a peroxinitrit bomlását katalitikusan segítő FP15 DAF fluoreszcenciát gátló hatása is. Próbáltak-e egyéb NO detektálási módszereket is alkalmazni a mitokondriális NO termelés vizsgálatához?
3. A SIN-1+ONOO⁻ kombinációt nem tartom szerencsés választásnak az NO és peroxinitrit közötti szinergizmus vizsgálatára, mivel a SIN-1 az NO mellett szuperoxidot is kibocsájt, így peroxinitrit generáló ágensként is használják. A 9. ábrán bemutatott kísérletek körülményei között is inkább peroxinitrit termelődhetett a SIN-1 készítményből, hiszen DAF jelet még magas koncentrációban sem adott.
4. A 113. oldalon némileg félrevezetőnek érzem azt a megállapítást, hogy „Több mitokondriális enzimről kimutatták, hogy részt vesznek az ADP-ribozilációban”. Az ennek kapcsán idézett 3 közleményből 2 cistein oldalláncon történő mono-ADP-ribozilációt, míg a harmadik ciklikus ADP-ribóz képződését írja le, melyek a disszertációban szereplő, Glu, Asp és Lys oldalláncokon történő poli-ADP-ribozilációval nincsenek szoros kapcsolatban.
5. A 89. oldalon a szerző emelkedett PARP aktivitást említ gesztációs diabeteses betegek leukocitáiban. Mivel a leukociták többségét kitevő granulocitákban nincs PARP expresszió, ezért az állítás valószínűleg a mononukleáris sejtekre vonatkozik.

6. A munka egyik legfontosabb eredménye az NO terápiás alkalmazására kidolgozott formuláció. Ennek mibenlétéről, valószínűleg szabadalmi okokból, nem sokat árul el a disszertáció. Érdekes lenne tudni, hogy a szerző által kidolgozott formula, mennyiben jobb vagy más, mint a hasonló készítmények [ld. Weller közleményei és szabadalma savanyított nitrittel vagy a Liu és Balkus által leírt (Chem Mater 2009) politejsav rostokba zárt zeolitos rendszer]. Milyen terápiás indikációkat tart lehetségesnek a készítmény alkalmazására a mikrocirkuláció javításán kívül?

7. Az MSC sejtek azonosítása több, várhatóan pozitív és több várhatóan negatív sejtfelszíni antigénre specifikus ellenanyagot tartalmazó panel alkalmazásával, és funkcionális jellemzéssel szokott történni. A pozitív jelet adó festések közül rutinszerűen alkalmazzák az anti-Sca-1, anti-CD106, anti-CD105, anti-CD73, anti-CD29, and anti-CD44A ellenanyagok kombinációit, ám a disszertációban 1 pozitív antigén (Sca-1) vizsgálata szerepel néhány negatív festéssel és kétirányú differenciációval. Történt-e ennél részletesebb fenotipizálás és funkcionális jellemzés kondrogén differenciációs képesség igazolására? Mi indokolta az MSC sejtek kiválasztását ezekre a kísérletekre, és próbálták-e más típusú sejtekkel megmenteni a károsodott sejteket?

Összegző vélemény

A jelölt számottevő tudományos teljesítményt mondhat magáénak. A 140 fölötti aktuális impakt faktor és teljes hivatkozásainak 900-hoz közelítő száma jelzi, hogy tevékenysége jelentős visszhangot kapott a tudomány világában. A disszertáció gerincét adó mitokondriális NO termeléssel foglalkozó rész negatív eredményt mutat be, de egyetértek a szerzővel, hogy a negatív eredmények is fontosak a tudomány előrehaladása szempontjából. Kiemelendőnek tartom a jelölt életművéből az élénk kutatás-hasznosítási tevékenységét is, melyet 7 szabadalma jelez.

Mindezek alapján támogatom a nyilvános vita kitűzését és a mű elfogadását.

Debrecen, 2013. február 11.



Dr. Virág László
MTA doktora