

## Opponensi vélemény

Krajcsi Péter

„Membrán transzporterek mint a gyógyszerek, növényi hatóanyagok és környezetszennyező anyagok ADMETox tulajdonságainak meghatározói.” c.

MTA doktori értekezéséről

Dr. Krajcsi Péter munkássága fontos hazai hozzájárulás a xenobiotikumok szervezeten belüli megoszlásának, *in vivo* hatásainak megértéséhez, a hazai ADMETox tudásbázis egyik fontos pillére. Az alkalmazott kutatási orientáció nála szintetizáló törekvéssel párosul, ami a xenobiotikumok szervezeten belüli sorsát döntően meghatározó membrán transzport sokrétű, a gyakorlati szempontból legfontosabb vegyületcsoportokat átfogó kísérletes vizsgálatához vezetett. Az alkalmazott módszerek széles skálája révén ezen folyamatok legtöbb, ADMETox szempontból releváns mozzanatáról összefüggő kép kialakítására törekszik. Ugyanakkor, egyes gyógyszerek és környezeti szennyezőanyagok felszívódását, kiürülését, mellékhatásait, kölcsönhatásait meghatározó transzport folyamatok legfontosabb molekuláris szereplőit azonosítva, gyakorlati fontosságú megállapításokat tesz. A magas áteresztőképességű szűrési célokra fejlesztett és szabadalmaztatott új vagy továbbfejlesztett módszerekkel az alap kutatás számára is fontos módszertani bázist teremt. Tudományos munkássága eredményeként az általa vezetett alkalmazott kutatási programnak kereteket biztosító cég - hazai alap kutatási környezete ill. a szakirodalom megállapításain kívül, ezektől függetlenül - önállóan, saját tapasztalatai, saját maga által formált szemlélete alapján alakíthatja üzleti törekvéseit.

A szakmai munkásság ill. a disszertáció meggyőzően demonstrálja nemcsak a színvonalas saját kutatások hasznát és szerepét a Solvo-hoz hasonló területen működő vállalkozások működésében, hanem példaadó abban a tekintetben is, ahogy az alap kutatás – lényegéből fakadóan és egyben jó értelemben vett módon - öncélú felismeréseit gyakorlati összefüggésbe helyezi és ezáltal az alap kutatási megfigyelések igazi, gyakorlati jelentőségét mérlegeli. Jó példája ennek a membránok koleszterin tartalma efflux transzporterek működését befolyásoló hatásait analizáló projektje, melynek felismeréseiből az alap kutatás is ihletet meríthet. Ugyancsak itt említhető és kiemelendő a csak speciális *in vitro* vizsgálati rendszerekben megfigyelt gyógyszer kölcsönhatások *in vivo* relevanciájának bizonyítása komplexebb ill. *in vivo* vizsgálati körülmények között.

Előbbi eredmények a disszertációban összefoglalt legfontosabb tudományos megállapításaihoz tartoznak. Az új eredmények sorához tartozik szelektív ABCG2, ABCC2 szubsztrátok azonosítása, több fontos növényi eredetű hatóanyag ill. környezeti szennyezőanyag felszívódását, szervezeten belüli sorsát meghatározó transzport folyamat tisztázása. Tudományos munkássága opponensi értékelésében hangsúlyosan méltánylandó egy sokrétű metodikai platform szisztematikus kialakítása és innovatív, ugyanakkor céltudatos fejlesztése, mely az ADMETox szempontból legfontosabb efflux és influx transzporterek átfogó vizsgálatára alkalmas. Ennek a munkának a keretében több, alapkutatási jelentőséget is hordozó új transzport esszé került kidolgozásra.

A disszertáció kb. 150 oldalas, jól szerkesztett, a téma sokrétűsége dacára is jól követhető, érdekes olvasmány. A jól eltalált mértékben részletező Bevezetés fejezetet követő Eredmények a területen saját tapasztalatokkal rendelkező olvasónak is érdekes olvasmány.

Pár bíráló megjegyzés. Ábrái leírásának meglehetősen szűkszavúsága a részletes és alapos metodikai fejezethez való gyakori visszalapozást tesz szükségessé. Néha ez sem elég – néhány példa:

A 13. táblázat tartalma, a kísérő szöveg és az ábraszöveg nem teljesen fedi egymást.

A 14. táblázat az eredeti közlemény nélkül nem érthető.

A 12-es ábra (felcserélt paneljeinek egyike) két görbét mutat, „aktivitás” és „gátlás” felirattal megkülönböztetve – a két görbe jelentését illetően a Szerző magára hagyja az olvasót.

A 19-es ábra betét ábrája tengely feliratait nem olvashatók nagyítóval sem.

Az 5. ábrán a transzportereket kétféle színű kör szimbolizálja – pl. a BBB P-gp piros, a BCRP kék. Nem derül ki, hogy ennek van-e, ill. mi a jelentősége.

A 9. ábrával kapcsolatban említi, hogy a koleszterin potencírozás mind az ATPáz esszéiben, mind a vezikuláris transzportban megfigyelhető és a két aktivitás koleszterin függése korrelál. Az ábra a szubsztrátként vizsgált ösztron-származék transzportját (A,B) és vanadát-szenzitív ATPáz aktivitását (C,D) mutatja, koleszterin-modulálás mellett és anélkül. A lineáris (A,B) és logaritmikus (C,D) ábrázolás különbsége okozhatja, hogy ez a korreláció az ábrán nem szembeötlő.

További kritikai megjegyzés: az idézett állítások, adatok nem minden indokolt esetben támaszkodnak irodalmi hivatkozásokra, a nagyszámú, kb. 300 idézett referencia dacára.

Az Eredmények c. fejezet tanulmányozása kapcsán az opponensben megfogalmazódott kérdések, felvetések, melyeket az alábbiakban sorolok, a munka legfontosabb megállapításait és az arról alkotott egyértelműen pozitív opponensi véleményemet nem érintik. Részben azért, mert a teljes munka hozadékával össze nem mérhető jelentőségű részeredményekre vonatkoznak, részben mert a kísérleti megfigyeléseik további kérdéseket hordozó mozzanatait a Szerző a szakirodalom rendelkezésre álló ismereteivel egybevetve sokoldalúan értékeli a Megbeszélés c. fejezetben.

1. Ciklodesztrineket használtak koleszterin kivonására ill. bevitelére. Az eljárás pontos paramétereit a metodikai fejezetben leírva nem találtam. Már néhány mM-os cc.-nál lényeges lehet ezen kezelések toxicitása. Pl. a 10-es ábra hatásai esetében mérlegelendő ez a lehetőség. Továbbá: volt-e mérési tapasztalat a koleszterin feltöltés hatásosságára vonatkozóan?
2. A 11. táblázat adatai szerinti differenciák a vizsgált három faj ABCB11 transzporterének alap  $k_M$  és  $v_{max}/k_M$  értékeiben mutatnak-e korrelációt a vizsgált sejtteinek membránja koleszterin tartalmával? Ugyanebben a táblázatban a humán ABCB11 glikokenodeoxikolát szubsztrátra kapott  $k_M$  értéke a koleszterin dús membrán környezetben 1.7-ről 4.3  $\mu M$ -ra nő, míg  $v_{max}/k_M$  értéke ugyanekkor egyáltalán nem változik. Ez mintha ellentmondana azzal a megállapításával, hogy a  $k_M$  értékekhez képest a  $v_{max}/k_M$  értékek mutatnak összefüggést a koleszterin hatással. Továbbá: ha utóbbi megállapítás a kivételek dacára a trend, ez a trend vajon milyen mechanizmusra - a koleszterin milyen szubsztrátkötési  $k_M$ -tól független hatására - vezethető vissza?
3. A calcein-AM intravezikuláris retenciója – melynek mechanizmusát máig nem tisztázottként jellemzi - nem magyarázható-e egyszerűen az acetoximetilészter hidrofobicitásával? Ugyanitt: a szacharózos kezelésnek mi a szerepe ezekben a kísérletekben?
4. A seliciclib CDK gátlószer 20. ábrán mutatott citotoxicitása nem látszik függeni a vizsgált sejtek MDR1 státuszától – a transzport adatokkal szemben. A dolgozatban is hangsúlyozott észlelet magyarázatára a diszkusszióban felvetett alternatíva mellett a

vegyület esetleges apoptogén (mellék)hatása felmerül-e? Erre a lehetőségre vonatkozó mérvadónak látszó irodalmat is találtam (pl.: Josefsberg Ben-Yehoshua et al., Characterization of cyclin E expression in multiple myeloma and its functional role in seliciclib-induced apoptotic cell death. PLoS One. 2012;7(4):e33856).

5. A 29 C ábrán calcein esszé adatok láthatók. Feltűnő, hogy a vizsgált anyagok nagyobb koncentrációban az ATPáz esszéekben megszokott relatív gátlást mutatják – vagyis a koncentráció-függés harang görbe jellegű. Ez hogyan magyarázható?
6. Meglepett a VT esszéiben használt magas CsA koncentráció (100  $\mu$ M). Miért van erre szükség?

A kérdésekkel elsősorban a címre pályázó számára kívánok további teret adni munkája nyilvános bemutatására.

A scientometriai adatok közül kiemelem a dolgozat alapját képező közlemények sorában az utolsó szerzős közlemények nagy számát (16), az összesített impakt faktor magas értékét (195.72), az utolsó tíz év dominanciáját a tudományos teljesítményben és a független hivatkozások jelentős számát (721).

Opponensi véleményemet összefoglalva:

Krajcsi Péter kutatói tevékenysége a hazai ADMETox kutatások fontos mérföldköve, egyben úttörő példája az alapkutatási háttér és a gyakorlati hasznosítás közötti távolság alkalmazott kutatási áthidalásának. Tudományágát mind új tudományos eredményeivel, mind a gyökerét jelentő hazai alapkutatáshoz való kapcsolódásával jól érzékelhetően, igen jelentős mértékben előre vitte. Kijelentem, hogy a doktori műben összefoglalt, jelentős publikációs háttéren alapuló és komoly visszhangot kapó tudományos munkásság eredményeit elegendőnek tartom a doktori cím megszerzéséhez, értekezését áttanulmányozva a fokozat odaítélését indokoltnak tartom és melegen támogatom.

Szabó Gábor

az MTA doktora

Debrecen, 2014-05-18