PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
Általános Orvostudományi Kar
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet
H-7624 Pécs, Szigeti út 12.
Tel.: 72 / 536 – 279; Fax: 72 / 536 – 277
E-mail: ferenc.gallyas@aok.pte.hu

Bírálat
Dr. Bay Péter
Poli(ADP-ribóz) polimeráz-1 és 2 enzimek szerepe metabolikus transzkripciós faktorok szabályozásában
című doktori disszertációjára.

Az MTA doktori értekezés hivatalos bírálója a biokémia és molekuláris biológia területén viszonylag könnyű helyzetben van a mű tudományos újdonsága, értéke, illetve a bemutatott eredmények hitelessége megítélésének kérdésében, mivel ezt a tudományos közvélemény objektív mérhető módon megteszi helyette. Dr Bay Péter MTA doktori értekezése 7 zsűrizett közleményen alapul, amelyek átlag impakt faktora kifejezetten magas; 9.94. Az sem lehet kérdéses, hogy a közölt eredmények mennyiben tekinthetőek a jelölt sajátjaként, hiszen a publikációk közül négyben első, háromban utolsó szerző. Amennyiben a jelöltnek a Ph.D. fokozat megszerzése óta folytatott szűk tíz éves teljes munkásságát nézzük, szintén nagyon kedvező a kép; 22 cikk, 139.5 kumulatív impakt faktor. Ez a közleményenkénti átlagosan 6.34 impakt faktoros teljesítmény még imponálóbb annak fényében, hogy a publikációk többsége itthon készült.

Az értekezés a mind fiziológiás, mind patofiziológiás szempontból rendkívül fontos PARP enzim metabolikus hatásaival, illetve az enzimnek az ezekért a hatásokért felelős transzkripciós faktorokkal történő kölcsönhatásával foglalkozik. Ezeket az eredményeket a szerző 75 oldal terjedelemben foglalta össze, továbbá mellékelte az értekezés alapjául szolgáló hét közleményének másolatát. Az értekezés a későbbiekben említett hiányosságok és kritikai észrevételek figyelembevételével is kielégíti megítélésem szerint az MTA doktori értekezésekkel szemben támasztott formai követelményeket mind terjedelmében mind felépítésében.

Az értekezés tartalmi szempontból igen jónak mondható; ugyanez sajnos nem mondható el a prezentációra. A művet, több tényezőnek köszönhetően, igen nehéz olvasni. Egyrészt, főleg az „Eredmények” fejezetben a jelölt igen sűrű, kompresszált mondatokat alkalmaz. Ezt részben az magyarázhatja, hogy igen nagy mennyiségű kísérleti adatot igyekszik az olvasónak átadni. Ugyanakkor, a doktori disszertációk terjedelmi követelménye lehetővé tette volna, hogy kicsit követhetőbbé tegye a nem szakember olvasó számára is az elvégzett kísérleteket. Az ábrák sem könnyítik meg az olvasó helyzetét. Esetenként, az eredeti közleményben (J. Biol. Chem.; Cardiovasc. Res.) szereplő ábrák olvashatóbbak és áttekinthetőbbek, mint a doktori disszertációban szereplőek. A harmadik faktor a mérhetetlen mennyiségű rövidítés.

Az ember már-már úgy érzi magát, mint egyes, katonák által írt világháborús elbeszélések olvasásakor, amelyek biztosan jól érthetőek egy másik katona számára, de a mai civil olvasó időnként még kitalálni sem tudja, miről van szó. Magam részéről indokoltnak tartom a nemzetközi irodalomban használt nem szokványos rövidítések használatát abból a célból, hogy a magyarra fordított kifejezés esetében egyértelművé tegyük, hogy az melyik fehérjére, fiziológiás folyamatra, betegségre stb. vonatkozik. Ugyanakkor, a jelen értekezésben használt rövidítések jelentős része szerintem teljesen felesleges, szintén jelentős részük sehol nem lett definiálva, és számos, főleg az ábrákon szereplő rövidítés a „Rövidítések jegyzékében" sem szerepel. Az előbb említett kritikáktól eltekintve a disszertáció nyelvezete jó, a műben viszonylag kevés az elütés, nyelvtani hiba, rosszul használt kifejezés vagy értelmetlen mondat. Ugyanakkor, több zavaró figyelmetlenségi hiba csúszott be, kezdve mindjárt azzal, hogy az értekezést megalapozó hét közleményből négynek az Irodalomjegyzékben szereplő címe eltér a mellékelt közleményétől. Van ezen kívül félbehagyott mondat, és a szövegben az ábrához képesti ellentmondás is.

Az „Eredmények" fejezettel szemben a „Bevezetés" világos, tömör, de informatív. A témában kevésbé járatos olvasó számára is érthetően megvilágítja a téma tudományos hátterét, megalapozza a célkitűzéseket, illetve fogódzót ad az eredmények és azok jelentőségének megértéséhez. Ebben a fejezetben található az értekezés legjobban áttekinthető ábrája is. Ugyancsak nagyon jónak tartom a célkitűzéseket és a „Kísérleti módszerek áttekintése" fejezetet. Jó ötletnek tartom, hogy a szerző eltekintett a módszerek részletes ismertetésétől, és a részletek ügyében a mellékelt publikációkra hagyatkozott. A terjedelmi határokon belül, kivitelezhetetlen is lett volna az alkalmazott technikák megfelelő mélységű bemutatása, hiszen a szerző a legmodernebb metodikák széles palettáját alkalmazta. Megállapítható, hogy az alkalmazott módszerek modernek, adekvátak, és tanúbizonyságot adnak a szerző igen széles metodikai jártasságáról.

Szerencsére, az általános megjegyzések során már említés történt az „Eredmények" fejezet hiányosságairól, így legyen szabad a pozitívumaira koncentrálni. Igen nagy mennyiségű adat került bemutatásra. A 29 ábra többsége összetett, több mint 8 panelből áll. A kísérletek tervezése, felépítése logikus. A hivatkozások adekvátak, és az ismertetett kísérletek minden esetben logikusan vezetnek a következtetésekhez. Az értekezés Dr Bay Péter nevéhez köthető új tudományos eredményeinek az alábbiakat tartom:

1/ A PARP-1 deléció vagy gátlás mitokondriális biogenezisre gyakorolt hatása mechanizmusának tisztázása.

2/ A PARP-1, valamint a Sirt-1, -2 és -3 kapcsolati viszonyainak felderítése.

3/ Az 1. pontban említett mitokondriális biogenezis-emelkedés szerepének kimutatása a PARP-gátlók elhízásban és 2-es típusú diabetesben mutatott pozitív hatásában.

4/ A PARP-1 deléció és gátlás előnyös metabolikus hatásainak felderítése harántcsíkolt izomban.

5/ A Sirt-1 promóterének PARP-2 általi represszió jának kimutatása.

6/ A PARP-2 deléció Sirt-1 aktiváló, mitokondriális biogenezis növelő és energialeadás fokozó hatásának tisztázása májban és izomban.

7/ A PARP-2 deléció és a retionoidXreceptor/peroxiszóma proliferációt aktiváló receptor dimer kapcsolata szerepének kimutatása fehér zsírszövet lipid raktározásában.

8/ A PARP-2 deléció és a pankreatikus-duodenális homebox-1 kölcsönhatása szerepének kimutatása a hasnyálmirigy béta sejtek magas zsírtartalmú diétára adott hiperpláziás válaszában.

9/ A PARP-2 deléció doxirubicinnel kiváltott szívkárosodás elleni részleges védő szerepe molekuláris mechanizmusának felderítése.

A „Megbeszélés és perspeltívák fejezet" visszahozza a „Bevezetés" fejezet színvonalát. A mintegy 15 oldalas fejezet a maga 3 áttekinthető ábrájával és 2 informatív táblázatával világosan megmutatja, hogy a jelölt nemcsak szorgalmas kísérletező, hanem az eredményeket kritikusan értelmező, az irodalmat és a szakterület problémáit átfogóan ismerő kutató. Végezetül, a szerző 9 pontban foglalja össze saját új tudományos eredményeit. A disszertáció és a mellékelt közlemények alapján ezek az eredmények megérdemelten köthetőek a jelölt nevéhez. Az összefoglalással kapcsolatos apró észrevételem az lenne, hogy a 6. pontban az „ennek" szó felesleges, és értelemzavaró.

Az értekezéssel kapcsolatos kérdéseim és észrevételeim:

1/ A C57/Bl6J és az Sv129 eltérő genetikai hátterű PARP-1 kiütött egerek eltérően reagáltak a magas zsírtartalmú diétára. Mennyiben magyarázhatja az eltérő genetikai háttér, és mennyiben az eltérő genetikai manipuláció ezeket a hatásokat? Végzett valaki farmakológiai PARP-gátlással összehasonlító vizsgálatot a fenti két törzsön?

2/ A PARP-1 deléció hatására jelentősen megnőtt a NAD szint barnazsírban (kb. 180%) és harántcsíkolt izomban (150%) (5B ábra). Elképzelhető ilyen különbség, miközben a vad típusú egerekben is csak az háttér PARP aktivitás dolgozott?

3/ Eltérő hatásmechanizmussal, de a PARP-1 és PARP-2 deléció nagyjából hasonló mitokondriális DNS mennyiségi növekedést okozott. Ugyanakkor a PARP-1 deléció védő hatása különböző paradigmákban sokkal kifejezettebb volt. Magyarázható-e a védő hatás eltérése pusztán a NAD-fogyasztással? Annál is inkább érdekes ez a kérdés, mert NAD depléció esetén az ember nekrotikus sejthalált várna. Kimutatható volt ilyen szintű nekrotikus sejthalál a vizsgált szövetekben vagy sejtekben?

4/ Kísérleteikben teljesen indokolható módon zsír, máj és izomszövetet használtak. Mi indokolta a HEK sejtek használatát a könnyű transzformálhatóságon kívül?

5/ A 3D, 4B, 6E, 7A, 9G, 10C, 13A, 18A, 19A,G, 22F, 23F, 24G, ábrákon feltüntetett relatív expressziós növekedések viszonylag kismértékűek voltak (<<100%). Általában 300%-os génexpressziós növekedést szoktak szignifikánsnak elfogadni. Mennyiben tekinthetőek a felsorolt változások nem statisztikai értelemben szignifikánsnak.

6/ A 3.5 pontban a statisztikai feldolgozásnál $p<0.01$ és $p<0.001$ szignifikancia szinteket is feltüntetett. Szigorúan véve a statisztikai módszerek csak $n>50$-es csoportok esetén használhatóak, így az élettudományokban használatos elemszámok mellett még a $p<0.05$ szintet is rosszallóan nézik a statisztikusok. Javaslom a jövőre nézve a $p<0.05$ szint használatát olyan esetekre is, amikor a statisztikai szoftver ennél magasabb szintet mutat.

7/ Miért tubulint használtak az egyenletes fehérjefelvitel ellenőrzésére függetlenül attól, hogy a vizsgált fehérje milyen sejten belüli lokalizációval rendelkezik.

8/ A 11. ábrán az 1. panelben a PARP-1 sávok jól látszanak mind a normál módon táplált, mind az éheztetett állatokban. Ugyanakkor, a 2. panelben nem látszanak a PARP-1 sávok a normál módon táplált állatokban, csak a magas zsírtartalmú diétán tartottakban. A két normál módon táplált csoportnak meg kellene egyeznie. Mi volt az eltérés oka?

9/ A PARP-1 és PARP-2 génkiütött egerekben viszonylag mérsékelt génexpressziós változások mellett jelentős funkcionális változásokat (hidegtűrés, oxigénfogyasztás, futásmennyiség, betegségekkel szembeni védelem) tapasztaltak. Nem lehetséges, hogy a „funkcionális többlet” a jelátviteli rendszerek és mitokondriális működés pozitív befolyásolásából származik?

Összegezve, Dr Bay Péter jelentős tudományos eredményekkel járult a terület tudásanyagának bővítéséhez. MTA doktori értekezése mind tartalmi, mind formai szempontból megfelel az elvárásoknak, ezért javaslom értekezésének nyilvános vitára bocsátását, és sikeres védés esetén számára a az MTA Doktora cím megadását.

Pécs, 2014. 08. 19.

ifj. Dr. Gallyas Ferenc
egyetemi tanár