

BÍRÁLAT

Dr. Csala Miklós “a 2-es típusú cukorbetegség és az endoplazmás retikulum” című MTA doktori értekezéséről

Csala Miklós munkásságát évek óta figyelemmel kísérhettem eredményeinek hazai konferenciákon történő bemutatása nyomán, ezért örömmel vállaltam el az MTA doktori cím elnyerésére benyújtott értekezésének bírálatát. A disszertáció a jelölt mintegy 20 évre visszanyúló munkásságát foglalja össze, melynek középpontjában az endoplazmás retikulum (ER) fiziológias működése áll, kitérve azokra az anyagcsere-betegségekkel való összefüggésekre is, melyek az ER diszfunkciójához kapcsolódnak. Az értekezés alapját képező 43 közleményből, melyek összesített impakt faktora 153.87, 33-at a jelölt első vagy utolsó szerzőként jegyez. Ezek a teljesítménymutatók meggyőzően tükrözik a jelölt a tématerületen elért számottevő tudományos eredményét. A bemutatott munka különös érdemének tartom, hogy nem hagyatkozik az *in vitro* biokémiai megfigyelésekre, hanem azokat sokszor *in vivo* kísérletekkel támasztja alá, és helyezi el fiziológiai és pathofiziológiai összefüggésbe.

A benyújtott disszertáció hagyományos formájú értekezés, amely 194 oldal terjedelmű. Az előszót követi egy 46 oldalas bevezetés, majd a célkitűzések fejezet után egy rövid, 11 oldal terjedelmű metodikai rész következik, amely tömören ismerteti a nem szokványos módszereket. Ezután a jelölt 74 oldalon, 50 ábrával illusztrálva mutatja be részletesen a kísérleti eredményeit, melyet követően egy 4 oldalas fejezetben összegzi és értelmezi a megszerzett ismereteket. Az értekezés a szokásos módon, irodalomjegyzékkel, a közlemények felsorolásával, valamint köszönetnyilvánítással zárul. A benyújtott dolgozat formailag megfelel az MTA doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeknek, amelyet már korábban részletesen megvizsgáltak, és megfelelőnek találtak.

Csala Miklós az MTA doktori cím elnyerésére benyújtott értekezésében a következőket tartom új eredménynek:

- 1.) Megmutatatta, hogy a vázizom szarkoplazmás retikulumában elhelyezkedő rianodin-receptor nemcsak Ca^{2+} csatornaként funkcionál, hanem a glutation transzportjára is képes.

- 2.) Májmikroszómákon végzett kísérleti megfigyelései összegzéseként kidolgozott egy olyan koherens modellt, amely leírja az ER lumenében történő diszulfidképződés mechanizmusát. Ez a modell egy elektrontranszfer reakciólánc, melyben a ciszteintioloktól végeredményben az oxigénig, mint végső elektronakceptorig jutnak az elektronok, és amelyben fontos szerepet játszik az aszkorbát mind az ER citoplazma felőli felszínén, mind az ER lumenben. Rávilágított a fenti folyamatban szerepet játszó enzimaktivitások elhelyezkedésére, valamint az E vitamin kulcsszerepére, amely gyakorlatilag összeköti az ER felszínén illetve a lumenben történő aszkorbát oxidációt.
- 3.) Kimutatta, hogy az aszkorbát hiány - még az oxidatív stresszt megelőzően - ER stresszt vált ki *in vivo*, amely megfigyelés alátámasztja a fenti *in vitro* megfigyeléseket, miszerint az aszkorbát prooxidánsként vesz részt az oxidatív fehérjeérésben.
- 4.) Kísérletileg igazolta, hogy a citoplazma és az ER NADP⁺/NADPH redox rendszere elkülönül, valamint hogy az utóbbi funkcionálisan elválik az ER luminális tiol-diszulfidrendszerétől. Kimutatta, hogy ER NADP⁺/NADPH készlete túlnyomóan redukált állapotban van, melyet a luminálisan elhelyezkedő, időben egyenletes expressziót mutató hexóz-6-foszfát-dehidrogenáz biztosít, és melyhez funkcionális kapcsolódik a glükokortikoidok átalakításáért felelős 11β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz, melynek expressziója szabályozott. *In vivo* kísérletekkel igazolta a fenti megfigyelések fiziológiai relevanciáját, az éhezés hatására bekövetkező eltolódást az NADP⁺/NADPH arányban, illetve a glükokortikoid átalakulásban.
- 5.) Megmutatta, hogy a glükóz-6-foszfát mellett – egy transzportlépést és izomerizációt követően - a fruktóz-6 foszfát is redukáló forrása lehet az ER-ben zajló NADP⁺ redukciónak, illetve kortizol átalakulásnak. Elsőként mutatta ki az ER fent említett foszfohexóz-izomeráz aktivitását.
- 6.) Rávilágított, a lipiddel kiváltott apoptózisban kialakuló ER stressz jelentőségére, valamint az antidiabetikus szerként használt metformin védőhatására, mellyel mind az ER stressz csökkenthető, illetve a lipoapoptózis kivédhető.

A fent felsoroltakat új és jelentős tudományos eredményeknek ismerem el. Több esetben ezek az alapkutatási eredmények új potenciális terápiás célpontokat tárnak fel, melyek a kóros elhízással, a diabétesszel és hasonló anyagcsere-betegségekkel kapcsolatos alkalmazott kutatások, illetve gyógyszerfejlesztések tárgyát képezhetik a jövőben.

Az értekezéssel kapcsolatos kérdéseim és kritikai megjegyzéseim:

- 1.) Nem tartom túl szerencsének a címválasztást. Egyrészt az értekezés többről szól, mint amit a cím sejtet, másrészt a dolgozatban ismertetett eredmények a 2-es típusú diabéteszsel csak részben, vagy csak áttételesen kapcsolódnak.
- 2.) Az ember nem képes előállítani az aszkorbátot a gulunolakton-oxidáz (GLO) enzimaktivitás hiánya miatt. Evolúciós szempontból jelenthet-e és milyen szelekciós előnyt jelenthet az aszkorbát szintézis elvesztése. Vajon a patkány májszövetében az aszkorbát végtelen forrásként jelenik meg, vagy limitálhatja az ER lumenében történő diszulfidképződést. Vajon emberben, vagy a modellül szolgáló tengerimalacban a kimutatott ER stresszen felül az oxidatív fehérjeérés defektusát is okozhatja a C-vitamin hiányos állapot?
- 3.) Kimutatták az ER tiol-diszulfid és $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ redox rendszere funkcionális elkülönülését. Frakcionálással viszont nem sikerült kimutatniuk, hogy a két rendszer fizikailag is elválik. Elképzelhetőnek tartja-e az ER-ban – túl a sima és durvafelszínű ER elkülönülésén - további szubkompartmentek előfordulását? Milyen módszerrel lehetne kimutatni a tiol-diszulfid és a piridin-nukleotid redox rendszer fizikai elkülönülését vagy együttlétét?
- 4.) A bemutatott kísérleti eredményekből világossá válik, hogy a fruktóz-6-foszfát (F6P) egy transzport lépés útján kerül be az ER lumenébe. A máj és zsírszövet összehasonlításában különbséget találtak a fruktóz-6 foszfát és glükóz-6 foszfát transzport sebességében. Ez önmagában nem jelenti feltétlenül azt, hogy a fruktóz-6-foszfátot egy független transzporter szállítja. Számos további magyarázat lehetséges: izoformák, posztraszlációs módosítások, illetve egy független glükóz-6 foszfát transzporter jelenléte. Van-e kísérletes bizonyíték a F6P-specifikus transzporter létezésére?
- 5.) A bemutatott kísérleti adatok arra utalnak, hogy a fruktóz-6-foszfát nagyobb része, kb. 90%-a az ER felszínén izomerizálódik. Mi lehet ennek az átalakulásnak a szerepe, és mi lehet ennek viszonya a lumenális a F6P izomerizációhoz?
- 6.) Megmutatták az EGCG teaflavanol, illetve a klinikumban is alkalmazott, a mellékvese kortizol termelés gátlására használt metirapon az ER redukzív kapacitására gyakorolt hatását. Lehet-e tudni, hogy a sejtvonalakon, illetve mikroszómákon végzett kísérletekben alkalmazott koncentrációk (5-50 μM metirapon és 25-100 μM EGCG)

milyen viszonyban állnak a farmakológiai koncentrációkkal, amelyet egy kezeléssel, illetve rendszeres zöldtea fogyasztással el lehet érni?

- 7.) A metformin az energia-szenzor AMPK kináz ismert aktivátora. Milyen összefüggésbe hozható a metforminnak az értekezésben ismertetett ER stressz csökkentő, illetve a lipoapoptózis kivédő hatása a energiaháztartással, benne az AMPK szerepével? Van-e hasonló anti-lipoapoptotikus hatása a korábbi fejezetben ismertetett EGCG-nek?

Apróbb észrevételeim és kritikai megjegyzéseim:

- 1.) Több helyen az értekezésben az „egyensúly” szó szerepel. Fontos megkülönböztetni az egyensúlyt a biológiai rendszerekre inkább jellemző steady state-tól.
- 2.) A cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia regulátor (CFTR) transzporterről ugyan megjelent néhány közlemény, amely arról számol be, hogy a glutationt is transzportál, azonban kellő kritikával kell kezelni ezeket az irodalmi adatokat, mivel sokszor csak az asszociálódó transzporter aktivitásról vagy még inkább indirekt, szabályozó szerepről van szó.

Véleményemet összefoglalva, Csala Miklós elért eredményeit és tudományos teljesítményét messzemenőig elismerem, így a dolgozat nyilvános vitára bocsátását és Csala Miklós számára az MTA doktori fokozat odaítélését teljes mértékben támogatom.

Budapest, 2016. március 3.



Homolya László
az MTA doktora