

## Opponensi Vélemény

### **Dr. Zádor Ernő „Vázizom regeneráció és transzgenezis” című MTA doktori értekezéséről.**

Dr. Zádor Ernő MTA doktori értekezése a vázizom regenerációban elért eredményeit foglalja össze, vizsgálja az izom regeneráció és a miogenikus reguláló faktorok valamint az izom elernyedésben alapvető jelentőségű sarcoplazmás reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  ATPázok (SERCA) összefüggéseit. A kandidátusi cím megszerzését követően a jelölt 33 (IF: 97,073, hivatkozás: 447) referált folyóiratban megjelent közlemény szerzője. A dolgozat ebből 17 (IF: 47,882 hivatkozás: 209) tudományos közleményre épül, amelyből 11 közleményben első és 2 közleményben utolsó szerző. 2015-ben ehhez jön még két utolsó szerzős cikk (IF egyenként 1,934 illetve 3,534). A munka nagy része egy a Dux László professzor közreműködésével létrejött tanulmányút illetve az azt követő hazatérés után hosszan fennmaradó együttműködés eredménye a jelölt és Frank Wuytack a Leuveni Egyetem professzora között. Megjegyzendő, hogy Frank Wuytack professzor az endoplazmás reticulum és a golgi  $\text{Ca}^{2+}$  transzport ATPázok tanulmányozásának egyik vezető kutatója Európában. Érdemes megemlíteni, hogy az egyetemi oktatás és kutatás mellett a jelölt 5 befejezett PhD témavezetője volt.

Maga az értekezés az irodalmi hivatkozásoktól eltekintve 94 számozott oldalból áll. Formai szempontból jól tagolt és megfelel az MTA Doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeknek.

Az Irodalmi áttekintésben a szerző a vázizom növekedésben illetve az izomregenerációban résztvevő mechanizmusokat mutatja be, részletesen tárgyalva az ezeket szabályozó miogenikus, autokrin-parakin faktorokat, az izomdifferenciációban résztvevő gének kifejeződését és az azt kísérő jelátviteli utakat. Miután a kísérletek döntő hányada az izomregenerációban szerept játszó SERCA fehérjék expressziós mintázatának tanulmányozására összpontosít, talán a bevezetőben érdemes lett volna a fehérjék struktúra-funkció összefüggéseiről és a  $\text{Ca}^{2+}$  szignalizációban betöltött szerepéről kissé bővebben írni, különösen hogy a P-típusú ATPázok közül éppen a SERCA-ról van a legtöbb szerkezeti adat és ez alapján a reakció ciklust leíró ismeretünk. Hiányolom még, hogy a bő (~230) irodalmi hivatkozás mellett meglehetősen kevés a friss (~7 nem saját idézet 2010 után) irodalom.

A Célkitűzések fejezet világosan megfogalmazza a felvetett kérdéseket, az Alkalmazott Módszerek fejezet a metodikákat, amikre aztán logikusan épül az Eredmények tárgyalása.

A dolgozat legnagyobb részét helyesen az Eredmények és az Eredmények megbeszélése című fejezetek teszik ki, a megértést 42 ábra segíti. Megjegyezném azonban, hogy sajnálatos módon az

ábrák egy részén nehezen olvashatóak a feliratok, feltehetően az eredeti közleményből történő átvétel miatt. Továbbá, a Megbeszélés fejezet lehetett volna célratörőbb jobban kiemelve a lényegét, összevetve a saját eredményeket a legfrissebb irodalmi adatokkal. A megbeszélés utolsó alfejezetében eredményei alapján a jelölt felveti a génterápia lehetőségét, viszont itt is a legutolsó irodalmi hivatkozás 2007-ből származik. Mi lehet a jelen álláspont ebben a vonatkozásban? A dolgozatot az Eredmények Összefoglalása, az Irodalomjegyzék és a Köszönetnyilvánítás zárja.

A jelölt legfontosabb új tudományos eredményeit az alábbiakban foglalom össze:

1. A jelölt egy izomregenerációs patkánymodellt hozott létre, amely alkalmas az izomspecifikus génkifejeződés monitorozására gyors és lassú vázizomban.
2. Kimutatta, hogy a lassú és gyors izomregeneráció eltér egymástól, amely megmutatkozik a miogenikus faktorok mRNS szintjének változásaiban is.
3. A myoD antiszensz rövid ideig tartó hatása a myoD kifejeződésre napokkal késleltette a regeneráció menetét.
4. A miogenikus faktor mRNS-ek és a myoD protein szintje egyenletes eloszlású és egyenletesen növekszik passzív nyújtás hatására a soleus izom/in határok között. A SERCA1a és a SERCA1b szintek nem változnak, viszont inkább az inhatárok közelében helyezkednek el.
5. A myostatin szintje izomnekrózis alatt rendkívül megnő majd a regeneráció alatt újra lecsökken mindkét típusú izomban. A myostatin mRNS és fehérjeszint ellentétes módon változik, ami myostatin kifejeződés fehérjeszintű szabályozására utal a regenerálódó vázizomban.
6. A TNF- $\alpha$  mRNA és fehérje szintje nő a nekrozis ideje alatt majd a mikrotubulusok megjelenése után lecsökken. A TNF- $\alpha$ -t feltehetően a makrofágok fejezik ki a regenerálódó izomban.
7. Az izomregeneráció során észlelt SERCA izoformák expressziós mintázata megegyezik a neonatális fejlődésben leírtakkal. A lassú SERCA2a kifejeződése ellentétben a lassú miozinéval nem függ a beidegződéstől.
8. Kimutatták, hogy regenerálódó lassú izomban sem a Ras sem a calcineurin nem befolyásolja a SERCA2a expressziót ellentétben a lassú miozinéval, amely Ras-függő.
9. A domináns negatív Ras bejuttatása néhány izomrostba stimulálja a növekedést az egész izomban feltehetően a calcineurin/NFAT indukált IL4 termelés fokozódásán keresztül.
10. A SERCA1b csendesítése néhány izomrostban a Ras gátláshoz hasonlóan, autokrin-parakrin módon fokozza az izomnövekedést.

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények nemzetközi, referált folyóiratokban jelentek meg így annak eredményei már komoly szűréseken estek át, ezért jelen esetben a részletes tartalmi bírálatról el lehet tekinteni. A disszertáció olvasása közben felmerülő kérdéseim a következők:

1. A pakányokon végzett regenerációs kísérletek eredményei mennyiben adaptálhatók humán vázizomra? Vannak-e szerkezeti/szabályozási eltérések a humán és a rágcsáló SERCA fehérjék között?
2. A neonatális SERCA1b mindössze nyolc aminosavban különbözik a SERCA1a variánstól a C-terminálison. Van-e ennek a C-terminális nyolc aminosavnak funkcionális vonzata azon túl hogy a két izoforma aktivitása gyakorlatilag megegyező; eltérő szabályozás, esetleg eltérő fehérje-fehérje kölcsönhatások, szubcelluláris lokalizáció vagy egyéb?
3. Az egyes SERCA izoformák expressziója szelektíven upregulálódik az izomregeneráció során utánózva a neonatális fejlődés egyes lépéseit. Azon túl, hogy az egyes izoformák a fejlődés különböző fázisaiban jelennek meg, ismert-e az egyes SERCA variánsok transzkripciós szabályozása?
4. A SERCA1b shRNS feltehetően a calcineurin/NFAT/IL4 útvonal szabályozásán keresztül serkenti az izomtömeg növekedését. Mérték-e NFAT transzlokációt vagy IL4 termelődést az shRNS-sel kezelt illetve a távolabbi rostokban?
5. Vizsgálták-e illetve van-e irodalmi adat arra vonatkozóan hogyan változik az NFAT1-4 fehérjék expressziója az izom regeneráció során.
6. Mi a legfrissebb álláspont az irodalomban a Ras és a calcineurin útvonalak kölcsönhatásairól? Vannak-e újabb eredmények a RAS  $Ca^{2+}$ -függő szabályozásáról?

Összefoglalva, a jelölt teljesítette az MTA doktori cím megszerzésének feltételeit mind a disszertációval szemben támasztott követelmény rendszer, mind a publikációs teljesítmény alapján. A Disszertációban felsorolt tudományos eredményeket illetve adatokat hitelesnek fogadom el. Mindezt figyelembe véve javaslom a disszertáció nyilvános vitára történő kitűzését és sikeres védelem esetén az MTA doktori cím odaítélését.

Budapest, 2016. május 13.

Dr. Enyedi Ágnes  
az MTA doktora