



SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar

Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

Igazgató: Dr. Kellermayer Miklós egyetemi tanár

1094 Budapest, IX. Tűzoltó u. 37-47.

Levélcím: 1444 Budapest, Pf. 263.

Tel.: 267-6261, Fax: 266-6656

E-mail: kellermayer.miklos@med.semmelweis-univ.hu

Dr. Palkovics László Amand, az MTA doktora

Titkár

Magyar Tudományos Akadémia

Doktori Tanácsa

1051 Budapest V.

Nádor u. 7.

Tel: 1/411-6286

Fax: 1/411-6233

Bírálat

Zádor Ernő:

Vázizom regeneráció és transzgenezis

című MTA doktori értekezésére

Nagy öröm és megtiszteltetés, hogy Zádor Ernő "*Vázizom regeneráció és transzgenezis*" című MTA értekezését bírálhattam.

Zádor Ernő disszertációjában az izomregeneráció mechanizmusait vizsgálja egy saját fejlesztésű modellrendszerben, fókuszálva a legfontosabb miogén faktorokra, a különböző SERCA és miozin izoformákra, az izomfejlődést gátló faktorokra illetve a fő, releváns jelátviteli utak fehérjéire. Az izomregeneráció kísérletesen hagyományosan nehezen vizsgálható téma, elsősorban szerkezeti és funkcionális komplexitása miatt. A folyamat rengeteg részlete ma is tisztázásra vár. Ezért Zádor Ernő kérdésfelvetése igen időszerű, fontos, és potenciális alkalmazásokkal is kecsegtet.

A jelölt téziseit elfogadom, új és jelentős tudományos eredményeit a következőkben tudom összefoglalni:

1. Kidolgozott és szisztematikusan alkalmazott egy olyan, izomnekrózist követő regenerációs modellt, amely lehetővé teszi releváns molekuláris szabályozó faktorok transzkripciójának és expressziójának időbeli követését. A modellt mind gyors (*m. extensor digitorum longus*, EDL), mind lassú (*m. soleus*) izomtípusokon tesztelte.
2. Részletesen leírta miogén faktorok, SERCA (szarko-/endoplazmás retikulum Ca-ATPáz) izoformák és izomnövekedés-gátló faktorok mRNS és fehérje szintjeiben a nekrosis és regeneráció folyamán fellépő időfüggő változásokat.
3. Felfedezte, hogy a SERCA izoformák változása az izom regeneráció folyamán a neonatális fejlődési állapotokat követi.

4. Kimutatta, hogy az izom beidegzése sajátos SERCA/miozin transzkripció és expressziós mintázatot alakít ki az izomregeneráció során.

5. Kimutatta, hogy térben limitált transzfekció az egész izomra kiterjedő hatásokhoz vezet, amely akár génterápiás lehetőségeket hordoz.

Az értekezés alapjául 17, nemzetközi folyóiratokban megjelent közlemény szolgál, melyből a jelölt 14-ben terminális szerző. A jelölt további 16 közlemény szerzője, és a legtöbb esetben itt is terminális szerző. Ezek a cikkek közvetetten kapcsolódnak a disszertáció tematikájához. A közleményekből összességében egy koherens, a harántcsíkolt izom biokémiájára és molekuláris biológiájára összpontosító tudományos munkásság bontakozik ki.

A disszertáció Irodalmi áttekintés fejezetében összefoglalást olvashatunk az izomregeneráció folyamatáról, majd az abban részt vevő regulációs faktorokról. A Célkitűzések és kérdésfelvetések fejezet igen ambíciózusan 14 pontba sorolja a jelölt tudományos céljait. A Módszertani összefoglaló részletes, de nem elaprózott módon tárgyalja az alkalmazott metodikákat. Az Eredmények fejezet tényszerűen mutatja be a fő eredményeket, a publikált cikkekből vett ábrák segítségével. A Megbeszélés fejezet igyekszik lehetséges magyarázatokat adni a megfigyelésekre és perspektívába helyezni a kutatást. Az eredmények összefoglalása, mintegy a Célkitűzések tükéreképeként, ugyancsak 14 pontba sorolja a kutatás eredményeit.

Megjegyzéseim:

1. Zádor Ernő disszertációja meglehetősen nehézkes olvasmány. Ennek több oka is van. A szövegben hemzsegek a rövidítések, ráadásul nem minden rövidítés található meg a Rövidítések jegyzékében. A fogalmazás gyakran körülményes, az érződik rajta, hogy a szerző angol nyelvből egy az egyben igyekezett magyarba áthelyezni az üzenetet. Többször is változik az igeragozás (többes szám első személyből egyes szám első személybe és vissza). Keverednek a magyar, a latin és az angol betűzések (chemotaxis, neutrophil, phagocytosis, domain, kompetálás, overnight, boxok, mikrográf, stb.), és egyes magyartalan szavak (pl. "dramatikusan") rendkívül redundánsan bukkannak fel. Az angol szavak alkalmazásának mintegy csúcspontja az "ascorbic acid" (p. 29), amely Szent-Györgyi Albert egyeteméről jöve arcpirító. Végül, a szövegben rengeteg a betűhiba és betűhiány, ami gyakran teljesen érthetetlen mondatokhoz vezet. Egy kisebb szemelvény:

-p. 6, 18. sor: "Az izomrost minden pontján szüksége..."

-2. táblázat (p. 11): "neonatalis izom", "pankreáz" (ez egy enzim vagy a hasnyálmirigy?)

-p. 13, első bekezdés, utolsó mondat érthetetlen: "Mindebből az következik, hogy..."

-p. 20, 13-as pont: "A neonatali szarkoplaszmás..."

-p. 27, első mondat: "Az antiszenz oligók stabilitásának mérés:"

-p. 31, 6. ábra: utalás a 4. ábra jeleire értelmezhetetlen.

-p. 35, alulról a 6. mondat érthetetlen: "Az anti-start oligonukleotidot injektálása után..."

-p. 47, 23. ábra: Mi az a "Vonal: 100 50 µm"?

-p. 49, utolsó mondat: végül is mivel asszociálódtak az I-esnek látszó rostok gyakrabban?

-Mi az az ubiquitous (a disszertációban több helyen)? Nem inkább "ubikviter"? Vagy még inkább "mindenütt előrorduló"?

-p. 72, 11. sor: "rever transzkripciót".

Egy számítógépes javítóprogrammal a hibák jelentős része bizonyára orvosolható lett volna.

2. Bár az Irodalmi áttekintés kitér a harántcsíkolt izom regenerációs folyamatának főb celluláris állomásaira és a moduláló regulatorikus faktorokra, szinte alig tesz említést arról a precíz, félkristályos szerkezetről, amely az izomszarkomert jellemzi. Ez azért figyelemre méltó, mert kevés olyan szövet van, amely ilyen hierarchikusan és magasan rendezett strukturájú. Bármely fejlődési, nekrotikus vagy regenerációs folyamat érzékenyen érinti ennek a csodálatos szerkezeti hierarchiának a megbomlását vagy kialakulását.

3. Az Eredmények megbeszélése fejezet olvasását az nehezíti, hogy gyakorlatilag semmilyen visszautalás nem történik a saját eredményekre és ezen belül különösen az ábrákra. Az olvasóra van bízva, hogy megfelelő helyre lapoz-e vissza, hogy megtalálja a következtetések alapjául szolgáló kísérleti eredményt.

Kérdéseim:

1. A Bevezetés kitér az izomdifferenciálódási markerekre (p. 9), ide sorolva a dezmit, az alfa-aktint, a miozint és a SERCA fehérjét. Ugyanakkor számos fehérjéről ismert, hogy szinte kizárólag a harántcsíkolt izomban expresszálódnak (pl. titin, nebulin, stb.). Ezek felhasználhatóak differenciálódási markerként?

2. BrdU jelölés kimatása (p. 23 legalja). Miért véletlenszerűen kiválasztott blokkokat alkalmaztak az immunfestéshez? Mi indokolja, hogy nem használták a teljes izommintát?

3. A regenerálódott izom ultrastrukturája (szarkomerikus, miofilamentális szerkezete) milyen az eredeti, nekrozist megelőző izomszerkezethez képest (5-6. ábrákhoz kapcsolódóan).

4. Mi az oka annak, hogy a MyoD transzkript időfüggő változásai (8.A ábra) késnek a fehérjéhez képest (10.A ábra)? Nem fordítva várnánk? Jóllehet erről olvashatunk egy lehetséges magyarázatot (72. oldal), miszerint szatellitasejtek vagy miogenikus prekursorok vándorolnak a nekrotizáló izomba, ez a lehetőség kísérletesen tesztelhető. Történt-e ilyen próbálkozás, avagy spekulációról van szó?

5. Passzívan nyújtott izomban változott-e az egy miofibrillum mentén elhelyezkedő szarkomerek száma? Más szóval, változott-e az átlagos szarkomerhossz? Ugyancsak ide tartozik, hogy a passzív nyújtási/terhelési kísérletekben milyen szerepet tulajdonít az izom rugalmas elemeinek (titin, mikrotubulusok, kollagén)?

6. Mi lehet a molekuláris mechanizmusa annak, hogy bizonyos SERCA izoformák mRNS-e a notexin adást követő egy napon belül gyakorlatilag eltűnik (20. ábra)? mRNS lebomlás? Transzkripció gátlás?

7. Milyen gyors a SERCA fehérjék normális kicserélődése (*turnover*) (21-25. ábrákhoz)? Más szóval, miért és hogyan lehetséges, hogy a SERCA fehérje a saját mRNS-ével szinkron módon tűnik el?

8. Mi állhat az innerváció és a miozin nehézlánc expresszió közötti szoros összefüggés hátterében? Mi lehet a molekuláris mechanizmus?

9. A mechanikai terhelés megváltoztatása (tenotomia) megváltoztatta-e egyéb fehérjék szintjének megváltozását is?

10. Hogyan történt a fehérjék kvantifikálása a fénymikroszkópos felvételeken (22, 23, 26, 28, 31, 34, 36. ábrák)?

11. Mi lehet a mechanizmusa annak, hogy a transzfekció távoli izomrostokban is érezteti hatását (37, 40. ábrák)? Üres vektorral történő transzfekció miért vezet izomtömeg és rostátmérő növekedéshez (40. ábra)? Mi az a "friss súly" (37. ábra) és miben különbözik a "friss tömegtől" (38. ábra)?

12. Az izomnekrózis tetőfokán mi biztosítja a szövet mechanikai kontinuitását?

13. A miozin és SERCA kifejeződés milyen szinten (pl. gén, transzkripció, szabályozás) és milyen mechanizmussal koordinálódik?

A fenti kérdések és megjegyzések mit sem vonnak le azon meggyőződésemből, hogy Zádor Ernő nemzetközi vonatkozásban is fontos tudományos teljesítményt foglalt össze disszertációjában. Részére a nyilvános vita kitűzését feltétlenül javaslom és támogatom, továbbá a mű elfogadására teszek javaslatot.

Budapest, 2016. május 2.

Dr. Kellermayer Miklós
Egyetemi tanár, az MTA doktora