

## **Opponensi vélemény**

*Bányász Tamás*

### **„Ionáramok dinamikája és koordinációja az emlős kamrai szívizomsejtek akciós potenciálja alatt”**

*című MTA doktori értekezéséről*

#### **Általános értékelés:**

Bányász Tamás benyújtott értekezésében arra a központi kérdésre keresett választ, hogy a szív ionáramai miként hatnak az akciós potenciál alakjára, illetve hogy az aktuálisan létrejött akciós potenciál miként módosítja az egyes ionáramok tulajdonságait fiziológias, illetve patofiziológias körülmények között. Jól ismert, hogy a szív patológiás elváltozásait az ionáramok perturbációi kísérik, melyek súlyos, akár életet is veszélyeztető ritmuszavarok kialakulásához vezethetnek. A modern kísérletes szívelektrofiziológia megoldásra váró alap problémája ezen ionáramok koordinációjának megértése, illetve kellő hatékonyságú, kedvező befolyásolása. Mindezen tényezőket figyelembe véve, Bányász Tamás témaválasztása fontos és időszerű.

#### **Formai szempontok:**

Az értekezés 104 oldalnyi, magyar nyelven írott szövegből áll, az érdemi rész 91 oldalt tesz ki, mely megértését 42 ábra és 2 táblázat segíti elő. Az értekezés logikusan szerkesztett, belső arányai megfelelőek, fejezetei kellő gondossággal íródtak, kivitelezése tetszetős. Az értekezés nyelvezete gördülékeny, helyesírási hibát elvértve találtam, ezekre külön nem térek ki.

#### **Tartalmi szempontok:**

A bemutatott eredmények a Jelölt saját tudományos megfigyelésein nyugszanak, a Szerző meghatározó szerepét hangsúlyozza, hogy közleményei közül szinte kizárólag első illetve utolsó szerzős publikációkat használt fel az értekezés elkészítéséhez. Az alkalmazott módszertan megfelelően megválasztott, releváns *in vitro* modelleken vizsgálódott a modern kísérletes elektrofiziológia elfogadott eljárásait felhasználva, illetve újakat bevezetve. Az értekezés egy gondosan megtervezett, koherens kutatási program megvalósítását mutatja be.

#### **Szcientometriai szempontok:**

A benyújtott értekezés szcientometriai értékelését megnehezítette, hogy a Jelölt nem adta meg, hogy mely publikációk képezik a doktori mű alapját. A közölt eredmények alapján, legkevesebb 13 eredeti közlemény kapcsolódik közvetlenül az értekezéshez a 2003 és 2012 közötti időszakból. Ezen publikációk közül a Jelölt 8 esetben első szerző, 2 esetben második szerző, 3 esetben utolsó szerző. Számos közleménye rangos nemzetközi folyóiratban jelent meg, mint a Cardiovascular Research, a Journal of Molecular and Cellular Cardiology, valamint a Biophysical Journal, melyek a tudományterület folyóiratainak legfelső 10%-ába tartoznak. Az értekezéshez kapcsolódó publikációk összesített impakt faktora 49.2, a független hivatkozások száma 160, a legmagasabb idézettségű közleményére 46 hivatkozás érkezett. Az értekezés benyújtásakor a Jelölt 90 teljes

publikációt jegyzett nemzetközi folyóiratban, melyek összesített impakt faktora 269.0, a független hivatkozások száma 901, a Jelölt Hirsch indexe 19. Publikációit tekintve 21 esetben első szerzőként, 6 esetben utolsó szerzőként szerepelt, melyek impakt faktor összege 73.8. Megállapítható, hogy a Jelölt egyértelműen megfelel az MTA Doktori Szabályzatában megfogalmazott, valamint az Orvosi Tudományok Osztálya által támasztott követelményeknek.

## **Az MTA doktori értekezés részletes bírálata:**

### ***Bevezetés és célkitűzések:***

A Jelölt világosan, információ-gazdag módon, ugyanakkor nagyon tömören foglalja össze a szívizomsejtek akciós potenciáljának kialakításában szerepet játszó legfőbb ionáramokkal, illetve az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -homeosztázis szabályozásával kapcsolatos ismereteket. E témák ismertetése során fogalmazza meg a Jelölt a megválaszolásra váró fő tudományos kérdéseit, illetve nevezi meg az értekezés célkitűzéseit. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy a célkitűzések egyes pontjai - mint "Az intracelluláris pH pufferelésében szerepet játszó bikarbonát ion mechanikai válaszbán és ritmuszavarokban játszott szerepének tanulmányozása.", valamint "A fordított frekvenciafüggés néven ismert jelenség mechanizmusának vizsgálata kutya és más emlősök kamrai szívizomában." - csupán ebben a fejezetben szerepelnek elsőként, az irodalmi áttekintés során érintőlegesen sem kerülnek ismertetésre.

### ***Anyagok és módszerek:***

A választott modern módszertan széles metodikai bázison nyugszik, melyeket a Jelölt magas színvonalon alkalmaz. Az *in vitro* kísérleti modelleken végzett vizsgálatok magukban foglalják az ionáram méréseket számos patch-clamp technika alkalmazásával, intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentráció meghatározást, kontrakciós erő mérést, és immuncitokémiai vizsgálatokat. A direkt mérések "*in silico*" modellkísérletekkel egészültek ki. Kiemelendő, hogy a Jelölt úttörő jellegű módszertani fejlesztéseket is végzett a feltett kérdések megválaszolásához, így kifejlesztette a Szekvenciális Akciós Potenciál Clamp technikát, illetve egy automatizált módszert a sparkok detektálására és elemzésére.

### ***Eredmények és következtetések:***

Az eredmények bemutatása logikus felépítésű, a szöveges részhez kapcsolódó ábrák világosan szerkesztettek, fontos segítséget nyújtanak a szöveg megértésében. Az eredmények ismertetését közvetlenül követi a következtetések levonása. A Jelölt a kapott eredményeket magas színvonalon, megfelelő perspektívába helyezve diszkutálja.

### ***Új megállapítások:***

A Jelölt mértéktartó módon foglalja össze az értekezés legfontosabb észleléseit. Ugyanakkor a megfigyelések 20 alpontra bontása, kevés támpontot nyújt annak megítélésében, hogy a Jelölt mely tudományos eredményeit tartja a legkiemelkedőbbnek.

## A Jelölt önálló, új tudományos eredményeiként a következőket fogadom el:

1. Kifejlesztette a Szekvenciális Akciós Potenciál Clamp technikát, mely segítségével egyazon sejt több ionárama is meghatározható az akciós potenciál során.
2. Igazolta, hogy a legtöbb ioncsatornára ható farmakológiai szer akciós potenciál hossza kifejtett hatása függ az ingerlési frekvenciától.
3. Kimutatta, hogy az akciós potenciál alatt az L-típusú  $\text{Ca}^{2+}$ -csatornák többszöri záródásra és nyitásra képesek, mely jelenség fontos szerepet játszik az akciós potenciál formájának kialakításában, valamint hozzájárulhat a korai típusú utódepolarizációk létrejöttéhez.
4. Igazolta, hogy a kamrai szívizomsejtek  $\text{Cl}^-$ -árama az akciós potenciál alatt két fázisú, míg a korai fázis a repolarizációhoz, addig a késői fázis a depolarizációhoz járul hozzá. Leírta, hogy a  $\text{Cl}^-$ -áram gátlása hajlamosít az utódepolarizációk kialakulására.
5. Kimutatta, hogy a késői egyenirányító  $\text{K}^+$ -áram lassú komponense ( $I_{\text{Ks}}$ ) a kamrai akciós potenciál fontos repolarizáló árama, melyet döntően az akciós potenciál plató magassága határoz meg. Ezen  $\text{K}^+$ -áramtól eltérően, az akciós potenciál alatt a befelé egyenirányító  $\text{K}^+$ -áram ( $I_{\text{K1}}$ ) és a késői egyenirányító  $\text{K}^+$ -áram gyors komponense ( $I_{\text{Kr}}$ ) nem mutatott frekvenciafüggést.
6. Kifejlesztett egy automatizált módszert a sparkok detektálására és elemzésére. A 2D eljárással megfigyelt spark frekvencia jó egyezést mutatott a korábbi, line scan metodikával kapott eredményekkel. Leírta, hogy a sparkok a szívizomsejtek síkjában szimmetrikus kiterjedésűek. Továbbá, meghatározta a sparkok közötti kapcsolat erősségét, azaz egy második, kapcsolt spark kialakulásának valószínűségét, illetve ennek távolságfüggését.

## A következő kérdéseket kívánom intézni a Jelölthöz:

1. Kamrai szívizomsejtek ionáramait vizsgálva igen jelentős sejt-sejt közötti eltéréseket tapasztaltak, ugyanakkor az akciós potenciálok jellemzői kis szórást mutattak (II. Táblázat). Mivel magyarázható ez a magas fokú heterogenitás az áramsűrűségek esetében? Különböző fajok esetében hasonló variabilitás volt tapasztalható? Egyazon szívből, illetve különböző szívekből izolált sejtek esetén miként alakult az áramsűrűségek szórása? Speciális térbeli megoszlást, például apikobazális irányú grádiens, mutattak a magas, illetve alacsony ionáramokkal jellemezhető sejtek? Az áramsűrűségek, illetve a megfelelő ioncsatornák fehérje expressziója között kimutatható kapcsolat?
2. Az értekezésben a Jelölt összefoglalóan írt az antracén-9-karboxilsavval (ANTRA) gátolható klorid áramokról ( $I_{\text{Cl}}$ ), nem téve le a voksát egyetlen specifikus áram mellett sem. Az adott kísérleti körülmények között mennyiben azonosíthatjuk az ANTRA-szenzitív áramot a  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivált  $\text{Cl}^-$ -árammal? A  $\text{Cl}^-$ -áram mennyiben függ az L-típusú  $\text{Ca}^{2+}$ -áramtól ( $I_{\text{Ca,L}}$ ), a  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -csereáramtól, illetve a szarkoplazmatikus retikulumból felszabaduló  $\text{Ca}^{2+}$ -tól?
3. Izoproterenol előkezelés után az ANTRA fokozta a késői utódepolarizációk kialakulásának esélyét. Ugyanakkor, ouabain előkezelést követően az ANTRA jelenlétében mind a késői, mind a korai utódepolarizációk kialakulása megfigyelhető volt (62-63. oldal). Mi magyarázhatja ezt a jelenséget?
4. Az ANTRA-érzékeny  $\text{Cl}^-$ -csatornák kifejeződése illetve a  $I_{\text{Cl}}$  miként változik kóros körülmények között a szívben? Mindez milyen patofiziológias jelentőséggel bír?

5. A 28. ábra szerint, bikarbonát ion hiányában (Tyrode oldat) az akciós potenciál megnyúlása volt megfigyelhető. Izolált sejtekkel összevetve, multicelluláris preparátumokon ez a hatás markánsabb volt. Mi lehet a magyarázata ezen jelenségnek?
6. A 32. ábra szerint, az  $I_{Ca,L}$  által az AP alatt szállított töltésmennyiség egyértelműen korrelált az  $I_{Ks}$  által közvetített töltésmennyiséggel, míg az  $I_{K1}$  illetve az  $I_{Kr}$  esetében hasonló összefüggés nem állt fenn. Nyugalmi viszonyokkal összevetve, akut  $\beta$ -adrenerg stimuláció hatására - ami jelentősen fokozza az  $I_{Ca,L}$ -t - tapasztalható-e lényegi átrendeződés a  $K^+$ -áramok egymáshoz viszonyított jelentőségében a repolarizáció során? Tartósan magas  $\beta$ -adrenerg tónus esetén miként változnak ezen  $K^+$ -áramok?
7. A Jelölt mely felismerését tartja biológiai tekintetben a legjelentősebbnek, illetve a potenciális terápiás hasznosíthatóság szempontjából a legígéretesebbnek?

Megállapítom, hogy Bányász Tamás jelentős tudományos teljesítményt ért el munkássága során, eredményei hozzájárultak e tudományterület továbbfejlődéséhez. A benyújtott MTA doktori értekezés formai szempontból gondosan elkészített, tartalmilag jelentős, önálló tudományos megfigyeléseken alapul. Mindezek fényében egyértelműen javaslom az értekezés nyilvános vitára történő bocsátását és az MTA doktora cím odaítélését.

Pécs, 2016. október 4.



Dr. Szokodi István  
az MTA doktora