

Prof. Koller Ákos
Opponensi vélemény

Dr. Földes Gábor MTA doktori értekezéséről melynek címe:
A szívszöveti átépülés jelátviteli folyamatai

Általános megállapítások:

A Doktori Értekezés egy igen fontos, a szívizomsejtek átépülésének molekuláris lépéseit kutató munkát mutat be. A kutatás témája az összejt alapkutatás szempontból igen időszerű és új, és várható, hogy a klinikai kutatás, valamint a klinikai gyakorlat számára is fontos ismereteket szolgáltat. A doktori mű összességében megfelel az MTA doktori előírás tartalmi követelményeinek.

Vélemény az értekezés a Formai megjelenéséről:

Igen szépen kivitelezett, gondos munka, melyben számos nagyszerű ábra segíti a szöveg megérését. A mondatokat könnyű olvasni és megérteni. Az Értekezés szerkezete azonban nem követi a megszokott formát, melynek inkább tartalmi kihatása van semmint formai (ezért lásd később).

Vélemény az értekezés Tartalmáról:

Cím és Bevezetés

A Cím és a Bevezetés igen szélesre nyitott, szinte minden problémát, és kérdést megemlíti a szerző, ami a szívelégtelenséggel és annak klinikai, kórélettani, molekuláris, és genetikai vonatkozásaival kapcsolatos. Ez azért nem jó mivel mindezen problémákat és kérdéseket nem lehet egy értekezés későbbi részében megválaszolni vagy kutatásként célul tűzni ki.

Cím:

1. A Címben nem világos mit ért a szerző a „szívszöveti” szón, csak a szívizomra gondol vagy minden más szövetre is, ami a szívben található. Ez „tág szó” a későbbiekben megnehezíti az Értekezés fókuszálását a szívizomsejtekre.
2. A Címben az „átépülés” szó szintén nagyon bizonytalan, hogy mit is jelent.

Bevezetés

3. Sokszor nem teljesen világos vajon melyik eredmény vagy jelút vonal milyen sejt kultúrában, állat modellben vagy humanban tisztázott. Vajon össze lehet-e őket vonni?

4. Igen sok a túl általános fogalom használata: pl. funkcióváltás, vagy romlás pontosan mit jelent, mitől van?
5. Hiányzik, annak világos leírása, hogy a szívizomsejt hipertrófiájának milyen formái vannak, annak különböző megjelenési – pl. egészséges, kóros - formái, és azok pontos okainak elkülönítése. Például a fokozott munkavégzés, sportolás is szívizom hipertrophiát okoz. Vajon az is mindig kóros? Ha igen miért igen, ha nem, miért nem? Ez azért fontos mert a szerző a kutatásaiban inkább a szívizomsejtek (kóros) hipertróphiáját, semmint a „szívelégtelenség” komplexitását kutatja.
6. A Bevezetésben a szerző megemlíti az FFA-szénhidrát szubsztrátum váltást, de nem látni mi ennek a fontossága a későbbi vizsgálatokban, és hogy ez miért van (azon kívül, hogy az izolált őssejtekben adott esetben, magzati fenotípus kialakul).
7. Feltehető a szívelégtelenség egyik fő oka, a szív nem megfelelő oxigén ellátása, a koronaira keringés elégtelensége, amit fontos lett volna kiemelni és pl. a kapilláris szívizom rost arányt megemlíteni, vagy az oxigén ellátottság fontosságát hangsúlyozni. Érdeemes lett volna megemlíteni a mitochondriumok szerepét hipoxiában ill. szívelégtelenségben (még akkor is, ha nem minden szívelégtelenség oxigén hiányra vezethető vissza).
8. Mi az oxigén ellátottság szerepe hipertróphia kialakulásában, ill. fordítva? (Ez a kérdés nem volt kutatva, de talán érdemes lett volna hipoxiás körülményeket teremteni izolált szívizomsejtekben).
9. Tudott, hogy nem csak szívizom sejtek elváltozása okozhat szívelégtelenséget. Ami azért fontos, mivel ahogy a szerző is említi, hogy számos szövet, sejt típus van a szívizomban, és azoknak is szerepe lehet a szívelégtelenség kialakulásában, és annak esetleges őssejtekkel való gyógyításában – ha lehetséges - amit meg kellett volna említeni. Kérdésként merül fel, pl. képesek a szívizomőssejtek véreket (endotélium, simaizom), extracelluláris mátrixot, idegszövetet, stb. is növeszteni, ami a szív jelentős részét teszi ki?
10. Ezek után kellett volna kifejteni, hogy a kutatómunka csak az izolált, tenyésztett szívizom sejtekre fókuszált. A Bevezetőben az irodalomban megtalálható, az ezzel kapcsolatos főbb eredményeket szükséges lett volna jobban ismertetni, hogy a szerző bevezesse és igazolja az elvégzett kísérleteket szükségességét és világossá váljon, mi az új a szerző és munkatársai kutatásaiban. Egyébként, a Bevezetés valószínű, hogy leközölhető lenne, mint egy jó összefoglaló (review) cikk.
11. Talán még nagyobb baj, hogy a Bevezető nem vezet hipotézisekhez, azaz nem tudjuk, meddig jutott el a korábbi kutatások és mi lenne az a következő logikus lépés, (lépések),

amit megkéne tenni, hogy megtudjuk, hogy az őssejt kutatás, ill. lehetséges terápia hogyan járulhat hozzá a szívizomhipertrofia ill. szívelégtelenség gyógyításához.

A Célok:

12. A célok inkább leíró jellegűek, semmint mechanizmust kutatók. Felmerül a kérdés: és mi van, ha a célokban kijelölt kísérleteket elvégzik, az abból szerzett tudás mire jó, mire ad választ, hogyan tudjuk a klinikumban hasznosítani?
13. Cél 1: mit jelent pontosan „összevetése”
14. Cél 3. 5. és 6.: A 3. 5. és 6. célokhoz tartozó irodalmi háttér nem volt kifejtve a Bevezetőben, így nem érthető miért lettek célul kitűzve.

Módszerek:

15. A szerző írja: „*A legtöbb kísérletet H7 hESC-sejtvonalon (WiCell Research Institute Bank, Madison, USA) és a ReproCell-től vásárolt hiPSC-sejtvonalon vagy a WiCell-től vásárolt IMR 90-4 sejtvonalon végeztük.*” A bíráló kérdezi: Miért ezeket a sejteket használták?
16. „*Az őssejttenyészeteket naponta komplett médiumcserével tápláltuk, és 37°C, 5% CO₂ és 21% O₂ mellett tenyésztettük.*” Miért ezt az O₂ % használták? Mekkora pO₂-nek felel ez meg. Mekkora a pO₂ szintje a sejt kultúrákban és a szívizom sejtekben in vivo? Hasonló a kérdések merülnek fel a pCO₂-vel kapcsolatban is.
17. 3.3. *Hypertrophiás stimulusok*
A Bevezető alapján joggal lenne elvárható az Ang II vel való stimulálás is, pl. hipertóniában elég gyakori szereplő ez a növekedési hormon típusú molekula.
18. „*Az immunszuppresszáns kísérletek*” A szerző miért végezte el ezeket a kísérleteket. A Bevezetőben erről nem esett szó.
19. „*ADRA1A receptor overexpressziója hiPSC-CM sejtekben*” A szerző miért végezte el ezeket a kísérleteket. A Bevezetőben erről nem esett szó.
20. „*3.13. In vivo vizsgálatok*”
„*Juvenilis Wistar Han ipatkányokat 108 AH-130 hepatoma sejttel inokuláltuk intraperitoneálisan, a tumornövekedést 5 (n=6), 7 (n=10), 9 (n=9), 11 (n=8) és 13 (n=12) napig követtük*” Ez a kutatási terület hogyan függ össze az őssejt szerepének kutatásával a szívizomhipertrofia és/vagy a szívelégtelenség tekintetében?

4. Eredmények és megbeszélés

21. Általában a bíráló nem tartja jónak e két fejezet összevonását, mivel akkor sokszor nem derül ki mi a tény és mi a vélemény. Ez később be is bizonyosul.
22. Az eredmények logikája nem tükrözi a Célok logikáját, sorrendjét (sem a Bevezetőét). Hogyan válaszolnak ezek az eredmények a Célokban leírtakra?
23. 4.1.1. *A patkány neonatális szívizomsejtek és a humán PSC-CM sejthalálózásának összehasonlítása:* itt hirtelen megjelenik a „chelerythrine (keleritin) egyike a gyógynövényeknek” lehet, hogy elnéztem, de sem a Bevezetőben sem a Módszerekben erről nem esett szó. Voltak-e korábbi kísérletek? Ahhoz ezek hogyan kapcsolódnak? Miért fontos ez a kísérletsorozat, mit tanulunk meg belőle a szívizom hipertrófiával és/vagy szívelégtelenségkel kapcsolatban.
24. 4.1.2. *Kardiotoxikus szerek vizsgálata hPSC eredetű szívizomsejteken*
Ez a rész szintén nem követi a Célok sorrendjét és nem derül ki miért végezte el a kísérleteket szerző, hogyan kapcsolódik a szívelégtelenséghez és az összejt tenyésztéshez és esetleges terápiához.
25. Az **Eredmények** részben nem csak eredmény és megbeszélés, hanem bevezető mondatok és részek is vannak, ami tovább nehezíti látni, mit csinált a szerző, mely adatokat mérte ő, mik az új saját eredmények.
26. Az **Eredmények** közepén, a 48. oldalon: *„A neonatális patkány szívizomsejtekben phenylephrine vagy angiotenzin II hatására, illetve a celluláris kalcium szintek direkt csökkentése nyomán a sejtmag importfolyamata gátlódik. Ennek kapcsán megfigyelhető a nukleáris pórusok átépülése, és az ennek következtében megváltozott egyensúly a hypertrophiás fenotípus kialakulásának egy korai lépését jelenti. Vizsgálataink azt igazolták, hogy a modellben fluoreszcens jelölésként alkalmazott sejtmag lokalizációs szignál (NLS) szubsztrát felvétele 15 perccel a phenylephrine adását követően fokozódik, ami arra utal, hogy a jelátvitel másodlagos hírvivő útvonalak aktiválódásához kötött, nem pedig egy direkt expressziós változáshoz. Azt találtuk, hogy a HDAC faktorok foszforilálódását és a sejtmagból való kikerülésüket...”* és így tovább. Ezek után egy review-szerű leírás következik adatok és ábra nélkül, azaz nem **Eredmény**.

27. Tulajdonképpen az Eredmények és Megbeszélés rész így folytatódik, amiből nehéz kihámozni mi a szerző által kikutatott új eredmény és az hogyan illik bele a korábbi kutatásokba.

28. „6. A kutatási eredmények gyakorlati jelentősége”

Ez a rész nem igazán biztató, mivel az összejt kutatás jelentős múltra tekint vissza és a szerző sem vetíti fel, hogy a közeljövőben használhatók lesznek-e terápiásan vagy a megtanult mechanizmusok pl. hipertrófiával kapcsolatban hogyan lesznek bevezethetők a klinikai gyakorlatba.

29. Sok kérdés maradt megválaszoltalanul: pl.: Volt-e már próbálkozás az összejt terápiával a szívizombetegségekben (állat ill. humán vizsgálatokban)? Mik voltak a tapasztalatok?

30. Az új összejtek hogyan épülnek be a szív elektromos szintitium-ába? Képesek e más szövetek termelésére, amik szintén szükségesek a szív működéséhez?

Összegző vélemény:

A kritikai megjegyzések: A Doktori Értekezés Címe, a Bevezető és az Eredmények és Megbeszélés szerkezete nem optimális, ez talán abból adódik, hogy hiányoznak a hipotézisek, melyek megszabták volna - nemcsak e dolgozat fókuszát szerkezetét és jobb érthetőségét - hanem a kutatás logikai igazolását is. (Az eredeti cikkében ez lehet, hogy meg volt). A bírálónak olyan érzése van, hogy az a rengeteg munka és eredmény, amit a szerző itt bemutatott nem mindig „transzformálódott” publikációba.

A pozitív megjegyzések: az Értekezésben a szerző nagyon sok, izgalmas, értékes, és igen magas színvonalú alap kutatási kutatási eredményeket ismertet, melyek mind mennyiségüket, mind minőségüket tekintve kiválóak.

Az új tudományos eredmények (tézisek) 1-6 pontját elfogadom.

Mindezek alapján, az Értekezést nyilvános vitára alkalmasnak tartom, ezért annak nyilvános vitára bocsájtását javaslom.



Prof. Dr. Koller Ákos

2019. október 03.