

Bírálat

Dr. Nagy Nándor „Az extracelluláris mikrokönyezet szerepe a vastagbél idegrendszerének embrionális fejlődésében” című MTA Doktori értekezéséről

A Jelölt akadémiai doktori munkájának célja az volt, hogy a lehető legrészletesebben tanulmányozza és feltárja a hátsóbél innervációjának kialakulását, annak szöveti, intercelluláris és molekuláris aspektusait, különös tekintettel a madár hátsóbélre, mint modellszervre. Mindezzel elméleti és bizonyos fokig gyakorlati útmutatásokat és lehetőségeket is felvetve a hátsóbél beidegzésének kóros fejlődését kísérő rendellenes jelenségek, mint a Hirnschprung-kór hátterét megvilágítandó, illetve annak kialakulását megelőzendő. Ezért a doktori munka aktualitása, üzenetértéke igen jelentős.

A disszertáció felépítése arányos, az a hagyományos szerkezetet követi, öt számozott fejezetet tartalmaz, úgy, mint 1. Bevezetés (25 oldal), 2. Célkitűzés (1 oldal), 3. Módszerek (20 oldal), 4. Eredmények (83 oldal) és 5. Eredmények megbeszélése és konklúzió (34 oldal), melyet számozatlanul 1 oldal Köszönetnyilvánítás és 20 oldal, közel 400 tételt tartalmazó Irodalomjegyzék zár. A disszertációhoz 80 ábra, többségében számos részképből álló tábla tartozik, melyek döntő része hagyományos fénymikroszkópos felvétel vagy lézer konfokális képalkotó rendszerrel rögzített kép.

A Jelölt célkitűzéseinek megfelelően egy valóban rendkívül részletes áttekintést ad a hátsóbél innervációjának kialakulásáról és szerveződéséről, azt meggyőző módon dokumentálja és eredményeit koncepcionálisan és bizonyos fokig jövőbemutatóan értékeli.

A disszertáció általános értékelése során kiemelendők egyrészt: ad 1. annak tudományos tartalma, ad 2. eredményeinek lenyűgözően sokoldalú bemutatása és összehasonlítása irodalmi adatokkal, ad 3. az egész kutatómunka koncepcionális megközelítése és felépítése. Másrészt: ad 1. a kísérletes eljárások rendkívüli sokoldalúsága és kombinálása, ad 2. a kísérletes megközelítések, paradigmák kidolgozása és megfelelő módon történő megvilágítása. Mindez a doktori munkát egyértelműen igen értékessé és más kutatók számára szinte gyakorlati útmutatóként is használhatóvá teszi.

A disszertáció főbb tudományos eredményei a következőkben foglalhatók össze.

1. Jelölt meghatározta a fejlődő bélidegrendszer elemeinek eredetét, melyben a plexus pelvicus a sejtek, a Remak ganglion a rostos elemek kialakulásáért felelős, továbbá feltárta a ganglionlécből származó sejtes elemek intestinális pályáját.
2. Leírta a bélkimérák és a rekombinációs technika „alkalmazásának” jelentőségét egyes fejlődési szakaszok szerveződésének megismerésében.
3. Azonosította azoknak a kémiai illetve molekuláris alkotóelemeknek a szabályozó szerepét, melyek a fejlődő vastagbél idegrendszer intercelluláris eseményeit meghatározhatják.

4. Nagy részletességgel feltárta azt a komplex szöveti környezetet, melynek döntő szerepe van az ENNC-k differenciálódásában és vándorlásában. Ezen belül leírta i) az endothel sejtek, ii) a vizszerális símaizom illetve és iii) a glia elemek szerepét, továbbá iv) az epitheliális és mesenchyma elemek, beleértve az SHH morfogén jellegét, végül v) az ECM molekulák és ENNC együttes vándorlását, és e folyamatban a tenascin központi szerepét.

5. Megállapította, hogy a sejtes és molekuláris szereplők komplex kölcsönhatása, azaz minden mindennel összefüggő interakciója alakítja ki a vastagbél innerváció végleges elrendeződését.

A disszertációval kapcsolatos általános kérdéseim a következők.

1. Milyen (klinikai) beavatkozások, mintavételi lehetőségek segíthetik elő a bemutatott eredmények alapján pl. a Hirnschsprung-kór kialakulásának előrejelzését?

2. Ha az előrejelzés lehetséges, akkor milyen beavatkozást javasolna, tart elképzelhetőnek a Jelölt a kialakuló malformáció esetleges megakadályozására?

2. Hogyan segíti elő a tenascin az ENNC-k vándorlását, ha az azokban intracellulárisan lokalizálódik, miközben köztudomású, és Jelölt ez maga is javasolja, hogy az ECM molekulák, mint extracelluláris elemek irányítják, terelik, majd rögzítik az innerváló elemek útját?

3. Mi a hátsóbél innerváció kialakulásának meghatározó oldala, a "preszinaptikus" vagy a "posztoszínaptikus? Azaz a receptorok és azok hordozói (sejtes elemek; izom, glia, stb) vagy az intracelluláris, pl. növekedési faktorok?

A disszertációval kapcsolatos **kritikai megjegyzéseim, kérdéseim** a következők.

A disszertáció, noha szakmai színvonala és tudományos tartalma egyértelműen kiemelkedő, mind tartalmi, mind szerkezeti-szerkesztési, továbbá számos részletének vonatkozásában kritizálható is.

Formai és általános tartalmi kifogások.

1. A disszertáció igen nagyszámú rövidítést tartalmaz, melyek szövegek közti magyarázata ugyan megtalálható, de ennek ellenére szükséges lett volna a rövidítések listája, mert a munka igen sokoldalú, kiterjedt jellege miatt nem volt egyszerű mindent fejben tartani az olvasás során.

2. Az eredmények tételes összefoglalása hiányzik, és ezt nem helyettesíti, hogy ez a tézisekben megtalálható.

3. Ugyancsak hiányzik a disszertáció alapjául szolgáló saját közlemények listája, melyet a Jelölt szintén csak a tézisekben ad meg. A tézisek és a disszertáció két különálló egység a teljes doktori művel kapcsolatban, azért egyik a másikkal nem helyettesíthető.

4. A zebraahal szerepeltetése a disszertációban egyetlen egybekezdéses alfejezetben, egy ábrával nem indokolt.

5. Az Eredmények fejezetben 57 ábra található, ami szinte kizárólag táblakép és igen nagyszámú (összesen több száz) részfotót foglal magában. Egyetlen egy felvételen sincs

méretarányos jel (bar), vagy lenne legalább az ábraszövegben a számszerű nagyítás feltüntetve. Ez, függetlenül a bíráló sok évtizedes tapasztalatától a mikroszkópos munka területén, elengedhetetlen lett volna. A bírálónak egyébként is az volt az általános benyomása, hogy kevesebb ábra többet adott volna, mind a mondanivaló, mind magát az illusztrálást illetően.

6. Az ábrák egy jelentős része igen kisméretű, azokon a hisztokémiai, immunhisztokémiai jelölések differenciált megjelenítése, a jelölések gyakori mellőzése miatt is, nem sikerült, illetve nem egyértelmű. A jelölések hiánya az ábráknak és az eredmények leírásának összhangját, értelmezését együtt és akár külön is nehezítette. Az ábramagyarázatok „self-explanatory” jellege több esetben is kérdéses. Helyenként mintha az olvasóra lenne bízva, hogy a képeken megfelelően tájékozódjon, vagy jelek nélkül is azonosítsa az eredményekben, illetve az ábraszövegben olvasható állításokat.

Az ábrák egy része (néhány vonalas kifejezetten) életlen.

Részletes kritikai megjegyzések (a fentiekhez kapcsolódóan, a teljesség igénye nélkül).

Tartalomjegyzék

3. Módszerek fejezetcím – helyesen: *Anyagok és módszerek*.

4. Eredmények – A 4.7. alfejezet után rosszul a 4.9. számozás következik.

Eredmények, ábrák, ábramagyarázatok

12A ábra – Olvashatatlan, 12B – az embrió felismerhetetlen, 12C – hol van pontosan az IHC jelölés (minden ”kék”)?

17.-18. ábrák – A 17. ábrán nincs jelölés, a 18.-on mindenhol van. 17N-O – mindkettőn vörös immunfluoreszcens jelek is láthatók, 17Q – a jelölés inkább „merge” mint vörös.

25C, D ábrák – A minimális és a kép mérete miatt alig észrevehető reakciókat jelölni kellett volna.

26. ábra – Az ábrának csak címe van, míg a magyarázó szöveg jobbra az Eredményekben olvasható. 26G – Mit jelölnek a nyilak? 26I – a sejtes jelölés a totál preparátumban nem figyelhető meg, ellenben a preparátum teljes, nem differenciált festődése igen.

27. ábra – Szintén csak ábracímmel rendelkezik.

29H-L ábrák – A hozzájuk tartozó ábramagyarázat teljesen hiányzik.

48. ábra – A 16 részképben bemutatott változások konkrét jellegének pontosítása az ábraszövegből hiányzik. - Mi a különbség az A, E, I, M (E8wt) és a B, F, J, N (nem kezelt) képek között?

49. ábra – Az A, E képeken a jelölődések jellege teljesen eltérő a többitől; a jelölés E-ben erősebb, mint az A-ban, míg a B, F; C, G és D, H kép párokban ez fordított. Az A, E kép felbontása is eltérő a többiekétől.

51. ábra – A: A farokbimbó malformáció a nyíl ellenére nem látható; H: a nyíl mire mutat?; J: ez a megváltozott izomfejlődést hivatott ábrázolni, ellentétben az ábraszöveggel; A K képhez a J ábraszöveg tartozik; L, M: mit ábrázolnak a felvételek?, az ábra magyarázat hiányzik.

62-64. ábrák – Nincs ábramagyarázat, a szövegbeli eredmények jelölések hiányában nem követhetők a képeken. Mindhárom táblán az A képen korábbi ábraszámok (5E, 8E, 14E) is láthatók. Az eredmények leírásában (118. o, 4.9.1.) középen a 63., 64. ábrával kapcsolatban mindössze egy mondatban összegzi a Jelölt a megfigyeléseit: "E8 és E14 stádiumban,....., az ECM expressziója jelentősen megváltozott". Konkrétan ez mit jelent? Minimum egyszer a mesenchyma és a periganglionáris régiókat jelölni kellett volna a tájékozódás érdekében.

65E, F ábrák – Hol van a jelölődés a ganglionon belül és kívül? A képek életlenek.

67D, E, H, I – Jelek hiányában a reakciók lokalizációja, azok rendellenes expressziója értelmezhetetlen (még a 123. o., 4.9.2. bekezdésben írottak segítségével sem). A D-I felvételek elektronmikroszkóppal készültek?

69G ábra – Ez egy áramláscitometriai kép (l. 126. o., 2. bek.), amit az ábramagyarázat nem említ.

69O, P ábrák – A kollagén és agrin expresszió (zöld) a sejtek körül és nem azokon belül lokalizálódik.

A fenti kritikai megjegyzések ugyanakkor semmit nem vonnak le a disszertáció egészének értékéből, annak eredményeiből, tudományos üzenetéből, mely alapul szolgálhat további, a kérdéskört még mélyebben megvilágító kutatások elvégzéséhez, amint ezt a Jelölt doktori munkájának végén maga is részletezi és kijelöli. Összefoglalóan megállapítom, hogy Dr. Nagy Nándor disszertációja, annak eredményei messzemenően megfelelnek az MTA Doktora cím odaítéléséhez támasztott követelményeknek. A disszertáció nyilvános vitára történő kitűzését, annak elfogadását és Jelölt számára az MTA Doktora cím odaítélését feltétlenül támogatom.

2021. november 30.

Dr. Elekes Károly
kutató professzor emeritus
a biológiai tudomány doktora