

Opponensi bírálati vélemény **Dr. Wiener Zoltán** „*Organoid technológián és állatmodelleken alapuló vizsgálatok gasztrointesztinális tumorokban*” című MTA doktori értekezéséről

A daganatképződés és a malignus lefolyású betegségek pontos patogenezise a mai napig is csak részlegesen ismert, azonban az új technológiák, modellrendszerek és vizsgálóeljárások gyakorlati elterjedésével az onkológia területén is forradalom zajlik. Dr. Wiener Zoltán ezen a területen kezdte meg és folytatja jelenleg is kutatói pályafutását, mint a Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet docense. A jelölt azon kutatók közé tartozik, akik egy kimagaslóan eredményes nemzetközi centrumban folytathattak kutatómunkát hosszabb tanulmányút keretében, ebben az esetben Finnországban a Biomedicum kutatóközpontban. Hazatérése után nem tört meg a kutatói pálya íve: Wiener doktor folytathatta a megkezdett onkológiai kutatásait jelenlegi munkahelyén is. A bíráló bizottság előtt fekvő doktori mű egy kiemelkedően értékes szeletet mutat be a nemzetközi szinten végzett molekuláris onkológiai kutatások eredményeiből.

Szeretném kiemelni, hogy a mű témaválasztása nem csupán aktuális, hanem úttörő abban az értelemben, hogy két olyan területet kapcsol össze a sejtbiológia és az onkológia területén, amelyek külön-külön is az elmúlt évek slágerének számítanak. Miután a jelölt Helsinkiben megismerte és elsajátította az organoid kultúrák létrehozását és vizsgálatát, ezt a technikát sikerrel be is vezette hazatérése után, majd ötvözte az intézetben folyó kimagasló színvonalú mikrovezikula kutatással. A doktori műben is bemutatásra került 7 olyan tanulmány, amelyek a két terület összekapcsolásának új eredményeit taglalják. Az értekezés világosan szerkesztett mű, a szerkesztés vezérfonala a bemutatott eredeti munkák és eredmények (12 cikk) sorrendisége, melynek vonalából nemigen lép- vagy tekint ki a szerző.

### **Általános bírálat**

#### *Formai szempontok*

Az értekezés formai szempontból megfelel a doktori művekkel szemben támasztott kritériumoknak, a szerző világosan tagolt fejezetekben tárja az olvasó elé munkája összefoglalását, konkrét célkitűzéseit, azok hátterét, majd az „Anyagok és módszerek” összefoglalása, az „Eredmények és megbeszélésük” szakaszokban következik a mű lényegi része. Dolgozatát 179 adekvát tételt felsoroló irodalmi hivatkozási lista zárja. A mű magyar nyelven, összesen 141 számozott oldalon készült el, melyet 74 számozott, összetett ábra illusztrál.

A doktori mű nem tartalmazza azokat a cikkeket, amelyek eredményeire közvetlenül épül, az utalás az eredeti munkákra világosan követhető a szövegben. A doktori mű alapját képező 12 saját cikket időrendi listán sorolja fel a jelölt az értekezés végén.

A dolgozat nyelvezete egységes, a szöveg jól követhető, olvasmányos és csupán néhány elütés maradt dolgozatában melyek részletezésétől eltekintek, ugyanis ezek a szöveg értelmezését nem zavarják.

#### *Scientometriai szempontok*

Az értekezésnek nem képezi részét az MTMT adatbázis beadáskori összefoglaló táblázata, így ezt a bírálat idején elérhető adatokból tudtam csak ellenőrizni. Dr. Wiener Zoltán teljes munkássága során 40 tudományos dolgozat és 1 könyvrészlet megírásában vett részt, az összes cikkre kapott független hivatkozások száma 5936, Hirsch indexe 22, első és utolsó szerzős cikkeinek száma 9+10, a munkásság majdnem fele. Az értekezéshez felhasznált 12 cikk közül 2+7 esetben állapítható meg jelölt vezető szerepe (első vagy utolsó szerző), a 12 cikk összegzett hatásmutatója 135,241, az ezekre kapott független hivatkozások száma 470.

Mindezen mutatók alapján megállapítható, hogy jelölt tudományos aktivitása kiemelkedő, jelentősen meghaladja az MTA doktori eljárásban elvárt küszöbértékeket. Öröndetes, hogy az MTA doktori értekezéshez felhasznált, primer eredményeket bemutató művek között több kiemelkedő (pl. Nature, Cancer Cell) cikk is található.

### Részletes bírálat, kérdések

1, *A kollagén EV-szekrécióra gyakorolt hatásával kapcsolatos kérdés:*

A VI-os cikkben bemutatott kísérletek egyik célja az EV szekrécióját szabályozó tényezők feltárása volt. Ezzel kapcsolatban vizsgálták az *in vivo* kollagén expresszió (nyilvánosan elérhető adatbázisból), és az *in vitro* hatások (organoid kultúrában) szerepét. A 30. ábrán bemutatott Kaplan-Meier görbék és expressziós adatok eltérést mutatnak az A1 és A2 kollagén között, az A2 expresszió szerint bontott túlélési görbék kereszteződnek a követés kb. 2. évében. Milyen tényezők állhatnak a jelenség hátterében? Befolyásolhatja-e ez a jelenség az *in vitro* rendszerben tett megfigyelések általánosíthatóságát? A matrigél-kollagén kísérletekben alkalmazott kollagén készítményben milyen arányban fordult elő A1 és A2 kollagén?

2, *Az EV-k daganatsejtek általi felvételét befolyásoló tényezőkkel kapcsolatos kérdés:*

Kiemelkedően jelentősnek tartom a XII. cikk témaválasztását és eredményeit, különösen amiatt, hogy az mRNS alapú COVID vakcinák "áttörték a falat", és világosan látszik a lipid partikulumok terápiás alkalmazásának jövője. A XII-es cikkben megállapította, hogy mind a sejtek összetétele, mint az EV-k felszíni fehérje expressziója hatással van a vezikula felvételre, jelen munkájában az IFITM1 szerepét igazolta. Ismert, hogy természetes antitestek célpontja is lehet az EV-k membránstruktúrája (mind lipid-, fehérje- vagy szénhidrát antigének által), amelyek az EV-k opszonizálása révén interferenciát okozhatnak ebben a mechanizmusban. Mit gondol, a cikkben leírt mechanizmust érintheti-e, befolyásolhatja-e egy ilyen opszonizációs jelenség?

### További észrevétel

- A 15. oldalon a "loss-of-heterozygosity" (LOH) jelenséget mint a allél-inaktivációs mechanizmust említi. A LOH jelenség ebben az értelemben csupán marker, nem oki tényező. Az allél inaktivációt (és a LOH-t) általában nagy delécio okozza (az említett helyen pl. az APC génben).

### Új megállapítások

A fenti kérdésekre adott válaszoktól függetlenül a jelölt új tudományos eredményeinek fogadom el a következőket:

- Kiemelkedő színvonalú, úttörő kísérletekkel vizsgálta a kolorektális rák és a pancreas primer duktális adenokarcinóma patogenezisét nemzetközi kollaborációban és önálló vizsgálatokban. Elsőként vezette be az organoid kultúrák és a mikrovezikulák vizsgálatát az onkológiai, tumor biológiai területre.
- A bélhám-kripták környezetére (fibroblasztok EV kibocsájtása), és a daganatprogresszióra hatást gyakorló tényezőkre (ECM összetétele, kollagén-expressziója, amely az EV termelést is befolyásolhatja) vonatkozó kísérleteivel igazolta, hogy a daganatkeletkezésre és progresszióra nem csupán mutációk, hanem a helyi környezet változásai is hatással lehetnek.
- Az tumor őssejteket célzó vizsgálataival igazolta az Lgr5 expresszió lényeges szerepét az őssejt fenotípusban, a sejtek heterogenitását (TGFbeta szenzitivitást befolyásoló

tényezők, mint pl. az Apc és a KRas jelenlétét), és a heterogenitás következtében megváltozó EV kibocsátás jelenségét (igazolta a CD44 expresszió szerepét).

- Az intesztinális organoid kultúrák vizsgálatával bemutatta, hogy az intesztinális őssejt-niche működésében és a daganatkeletkezés kialakulásában a szomszédos fibroblasztoknak, és az általuk termelt EV-knak alapvető szerepe van. A szabályozó folyamatok (amfiregulin cargo jelenléte, IFITM1 expresszió szerepe) leírásával kutatásainak közvetlen, a daganatsejteket célzó, vezikulum-alapú terápiák tervezésénél felhasználható értéke is van.

### **Összefoglalás, javaslat**

Tekintettel arra, hogy jelölt sikeres sejtbiológiai és onkológiai munkacsoportok tagjaként és vezetőjeként végzett kutatómunkát az elmúlt években, korábbi tudományos fokozata megszerzése és külföldi tanulmányútja óta végzett önálló munkássága kiemelkedően magas színvonalú és jól dokumentált, valamint a fent felsorolt pontok vonatkozásában új, hiteles és eredeti tudományos megfigyelésekkel járult hozzá a kolorektális rák, és a pancreas duktális adenokarcinóma patogenezisének vizsgálatához, javaslom az értekezés nyilvános vitára tűzését, és sikeres védés esetén Dr. Wiener Zoltán részére az *MTA doktora* cím odaítélését.

Dr. Prohászka Zoltán  
*MTA doktora*

Budapest, 2023-10-10