



Opponensi vélemény

Dr. Kvell Krisztián

„A tímusz életciklusát befolyásoló molekuláris célpontok azonosítása,
gyógyszerészi biotechnológiai alkalmazás fejlesztése”

című MTA doktori értekezéséről

A tímusz mérete, és benne a limfoid sejtek száma az életkor előre haladásával csökken, amit tímusz involúciónak nevezünk. Ez a folyamat a naiv T sejtek fejlődésének és a perifériás vérbe történő kijutásának csökkenését, valamint a T-sejt receptor (TCR) repertoár beszűkülését okozza. A keringő T-sejt-állomány összetételének és funkciójának a tímusz degeneráció következtében bekövetkező változásai a fertőző betegségekre való fokozott fogékonysághoz vezetnek, valamint fokozzák az autoimmun betegségek és a tumoros megbetegedések kockázatát. A jelenség mögött meghúzódó molekuláris mechanizmusok minél alaposabb megértése kritikus fontosságú a tímusz öregedésével összefüggő szövődmények mérséklésére irányuló stratégiák kidolgozásához.

Kvell Krisztián kísérletei során a tímusz kialakulásában és a zsíros degenerációjában szerepet játszó molekuláris eseményeket, valamint a tímusz involúció életmóddal és szelektív exoszómákkal történő befolyásolásának lehetőségét vizsgálta. Az értekezés 23 eredeti és 2 összefoglaló közleményre, valamint 3 könyvfejezetre épül. Ezek közül a Szerző 17 műben meghatározó szerző. Az elvégzett munka tudományos színvonalát jól jellemzi, hogy a publikációk túlnyomó többsége Q1(D1) /21(7)/ besorolású nemzetközi szaklapban jelent meg. Egy kicsit árnyalja a képet, hogy néhány publikáció témája csak nagyon érintőlegesen kapcsolódik az értekezés célkitűzéseéhez, ezért ezeknek a feltüntetése az értekezést megalapozó cikkek között nehezen indokolható.

Az értekezés nagyon sok rövidítést tartalmaz, ezért a Szerző egy külön jegyzéket készített ezekről. A jegyzék azonban nem teljes, a szövegben előforduló számos rövidítés jelentését az olvasónak egyedül kell megfejtenie. Az értekezés magyar nyelvű, ezért szerencsésebb lett volna a jegyzékben a rövidítések magyar nyelvű meghatározását is feltüntetni!

A „Bevezetés”-ben és az értekezés más fejezeteiben is a Szerző primer immunológiai szövekként hivatkozik a tímuszra, pedig a primer limfoid szerv/primer nyirokszerv sokkal elfogadottabb kifejezések.

Az „Irodalmi áttekintés” rész nagyon tömören mutatja be a tímusz öregedésének legfontosabb ismérveit, a Wnt jelátviteli folyamatok, a PPAR molekulacsalád és az exoszómák jelentőségét a tímusz működésében. A Szerző az értekezésben citált összesen 249 publikációból 96-ot idéz ebben a fejezetben, és ezek a jól megválasztott, adekvát hivatkozások is egyértelműen jelzik a széleskörű jártasságát a téma szakirodalmában.

Az elméleti és módszertani célkitűzések bemutatása után az alkalmazott anyagok és módszerek bemutatása következik. A szövettani festések leírása a többi módszerhez képest indokolatlanul részletes. Ugyanez érvényes az emberi porcsejtes kísérletek bemutatására is, ráadásul ezek a vizsgálatok csak nagyon áttételesen köthetők a tímusz működésének megértéséhez. Ahol ez releváns, a Szerző feltünteti a centrifugálás paramétereit is, azonban a fordulatszám megadása önmagában - a centrifuga és rotor specifikációja nélkül – nem könnyíti meg a kísérletek reprodukálását.

A legfontosabb eredményeit és azok diszkusszióját a Szerző egy közös fejezetbe vonva mutatja be. Az ábráknak és az ábramagyarázatoknak önmagukban is értelmezhetőnek kellene lenniük, de ez az elvárás számos esetben nem teljesül. Az olvasónak nagyon gyakran meg kell keresnie az eredeti közlemény eredeti ábraleírását, hogy megértse a bemutatott eredményeket. Többnyire nem derül ki az sem, hogy az adott ábra hány független kísérlet eredményeit reprezentálja! Három alfejezetben (A zsíros involúciót befolyásoló tényezők; A PPAR γ útvonal hatása a szövetkörnyezet függvényében; Szöveti szelektivitás elérése GM vezikulák, szilika nano-gyöngy, LNP használata révén) nagyon nehéz megítélni, hogy az egyes közleményekben publikált eredmények milyen mértékben járultak hozzá az értekezés megírásához. Arról sincs információ, hogy ezekhez az alfejezetekhez tartozó, társszerzős közleményekben mi volt a Szerző szerepe az eredmények elérésében. Az utolsó két alfejezet címei kicsit megtévesztők, mert azt sugallják, hogy már sikerült az exoszómák/nano-gyöngyök/nanopartikuláknak tímusz-specifikus, szelektív célba juttatását megoldani, pedig még számos technikai akadály megoldásra vár.

A fejezetben bemutatott új tudományos eredmények közül az alábbiakat tartom a legfontosabbaknak:

1. Beállítottak egy új, digitális PCR platformot, ami nagyon pontos hTREC kópiaszám meghatározást tesz lehetővé, akár szűrőpapíron beszárított vércseppből is.

2. Kimutatták, hogy az egér és az emberi tímusz organogenezise is erősen függ a Wnt4 / FoxN1 jelátviteli tengely aktivitásától.
3. Részletesen feltárták, hogy miként szerveződnek át az epitél sejtekben a jelátviteli folyamatok a tímusz involúció során (csökkenő Fz4, valamint növekvő Fz6 és Fz8 arány, fokozott CTGF képződés).
4. Azonosították az öregedés során a tímusz epitél sejtek zsíros degenerációjáért felelős molekulákat (emelkedő LAP2alpha és PPAR γ kifejeződés, és ennek következtében magas ADRP expresszió).
5. Kimutatták, hogy az öregedés során a tímuszban megjelenő zsírszövet „beige” típusú.
6. Elsőként írták le egérben és emberben a TBX-1 transzkripciós faktor kettős szerepét a tímusz teljes életciklusában (organogén szerep embrionális korban és „beige” adipogén szerep felnőtt korban).
7. Kimutatták, ha genetikai okokból alacsony a PPAR γ kifejeződése, az késlelteti a tímusz zsíros degenerációját.
8. Leírták egerekben, hogy már egyszeri szteroid kezelés hatására is tartósan (több mint 3 hónapra) felgyorsul a tímusz öregedése.
9. Leírták, hogy rendszeres testmozgás hatására megemelkedik a hTREC kópiaszám. Mesterséges neuronhálózatos vizsgálat alapján a vizsgált fiziológiai paraméter eltérések között ez egy domináns változás.
10. Kimutatták, hogy emberi tímusz tumorok esetében, a malignitás mértékével arányos intenzitású Wnt4 autokrin hurok révén tartják fenn fokozott osztódásukat a daganatos sejtek.
11. Leírták a tímusz epitél sejtekből származó exoszómák „homing” jelenségét, azaz hogy fokozott dúsulást mutatnak egér tímuszban
12. Kimutatták, hogy tímusz epitél sejtekből származó exoszómákban az over-expresszált Wnt4 fehérje mellett természetes módon bedúsuló és szintén PPARgamma antagonistá hatású miR27b is jelen van.

Az „Összefoglalás” fejezet 6 és fél oldal terjedelemben összegzi az értekezés legfontosabb eredményeit és azok lehetséges gyakorlati alkalmazását. Az értekezés szűken értelmezett tudományos részét a Szerző jövőbeli terveinek bemutatása, valamint az elméleti felfedezések és módszertani újítások pontokba szedett felsorolása zárja.

Az értekezésről általánosságban elmondható, hogy nyelvezete szabatos, stílusa a tudományos mondanivalónak megfelelő. Néhány gépelési hiba előfordul ugyan a szövegben, de ezek a disszertáció egészét tekintve jelentéktelenek. A szövegbe gondosan beillesztett 45 ábra mindegyike kifogástalan minőségű.

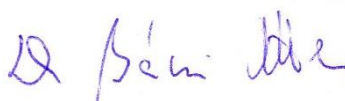
Az értekezéssel kapcsolatos további észrevételeim és kérdéseim a következők:

1. A tímuszt elhagyó naiv T sejtekben mennyi ideig mutatható ki a hTREC cirkuláris DNS?
A 8. ábrával kapcsolatban egy megjegyzés: nem organoidok, hanem tenyésztett embrionális tímusz lebenyek immunfluoreszcens festése látható a felvételeken.
2. A Wnt4 hatásának blokkolása intracelluláris kompetitív antagonistá molekulát kódoló adenovírus vektorokkal hogyan befolyásolta a tímusz epitél sejtek életképességét?
Másként fogalmazva, a morfológiai változást valóban a Wnt jelátvitel gátlása, vagy az epitél sejtek pusztulása okozta?
3. Mi a CD147/Basigin fehérje szerepe a tímusz öregedésében?
4. Számos tanulmány szerint a kalória restrikció lassítja az öregedés folyamatát. Vajon befolyásolja-e a tímusz öregedését?
5. A tímuszban eozinofil sejtek is jelen vannak. Lehet-e szerepük a „beige” zsírszövet kialakulásában?
6. A 20. ábra jobb oldali paneljével kapcsolatos kérdés: Mi okozza a TBX-1 transzkripciós faktor kifejeződésének csökkenését fiatal felnőttekben?
7. Mi lehet a magyarázat a rendszeres testmozgás hTREC érték növelő hatására? Nem lehetséges, hogy a naiv T sejtek képződése nem, csupán a keringésbe jutásuk fokozódik?
8. Milyen bizonyítékok támasztják alá, hogy az exoszómális miRNS-eknek a gyakori krónikus betegségekkel szemben preventív hatásuk van? (73. oldal)
9. Egy exoszómába/nano-gyöngybe/nanopartikulába csomagolt Wnt4 molekula hogyan tud kölcsönhatásba lépni az Fz4 receptorával *in vitro* és *in vivo* körülmények között?
10. A tímusz naiv T sejt termelő képességének lecsökkenésével hogyan változik meg a perifériás T-sejtek összetétele, fenotípusa és funkciója?

Összefoglalva: Kvell Krisztiánnak az értekezésben bemutatott tudományos eredményei jelentős mértékben hozzájárultak ahhoz, hogy jobban megérhessük a tímusz zsíros degenerációjának molekuláris mechanizmusait. Számos olyan új endogén és exogén faktort azonosított, amelyek képesek gyorsítani vagy lassítani a tímusz öregedését. Biztató kezdeti lépéseket tett azon az úton, amely elvezethet olyan új eljárások kidolgozásához, melyekkel a tímusz involúciója lassítható, megállítható vagy esetleg visszafordítható lesz. A kritikai észrevételek ellenére úgy vélem, hogy az értekezés mind formailag, mind pedig tartalmilag egyértelműen eleget tesz az akadémiai doktori disszertációkkal szemben támasztott követelményeknek.

Javaslom a nyilvános vita kitűzését, valamint a tudományos teljesítménye és a benyújtott értekezés alapján Kvell Krisztián számára a doktori fokozat odaítélését!

Debrecen, 2024. július 23.



Dr. Bácsi Attila
egyetemi tanár