

Opponensi vélemény

Dr. Szentesi Péter: „Az elemi kalciumfelszabadulási események morfológiája fiziológiás és kóros körülmények között vázizmon” című MTA doktori értekezéséről

Általános értékelés, szcientometriai szempontok:

Dr. Szentesi Péter értekezésében a vázizmok elemi kalciumfelszabadulási eseményeinek vizsgálatát mutatja be kísérletes módszerekkel egészséges és kóros körülmények között. Értekezésében az elemi kalciumfelszabadulási események alapvető tulajdonságainak leírása mellett (ami tehát elméleti cél) vizsgálatainak további célja az volt, hogy felderítse és megértse, hogy milyen összefüggés van ezek számának vagy alakjának változása és a miopátiát okozó kórfolyamatok súlyossága között. Utóbbi viszont már erős klinikai, sőt konkrétan terápiás célnak tekinthető. Megvizsgálta, hogy milyen mechanizmus révén tudja befolyásolni az elemi kalciumfelszabadulási eseményeket az egyes farmakonok vagy a sejtmembrán depolarizációja. Ezután tanulmányozta az elemi kalciumfelszabadulási eseményeket génmódosított állatok vázizmaiban is, ahol az elektromechanika kapcsolat egyes kulcsfehérjéinek a kalciumfelszabadulásban betöltött szerepét kívánta tisztázni.

A vizsgálatok kísérletes tanulmányozásának első korlátja egy hatékony és megbízható kísérletes állatmodell hiánya volt, ezért a kísérletes munka első lépcsőfoka a vizsgálni kívánt species vázizmának mérésekre alkalmas preparálásának kifejlesztése volt, így sikeresen kidolgozta és validálta egér, patkány és háziméh egyedi egészséges vázizomrostjainak izolálását.

Ezután kidolgozott olyan automatikus esemény-detektáló algoritmusokat, amelyek mind vonalmenti, mind kétdimenziós szkenneléssel mért képeken felhasználói beavatkozás nélkül képesek megtalálni az elemi kalciumfelszabadulási eseményeket. Az így nyert nagymennyiségű mérési adat feldolgozásával képesek voltak megtalálni az egyes kórfolyamatok vagy környezeti változások hatását az elemi események kialakulására és morfológiájára. Ma ezt a módszert már AI-vezérelt (mesterséges intelligencia vezéreltnek) vizsgálati módszernek is nevezhetnénk.

Vizsgálatainak alapgondolata a következőképpen fogalmazható meg. Mivel az elemi kalciumfelszabadulási események kialakulásában az elektromechanikai kapcsolat kulcsfehérjéi aktívan részt vesznek, bármilyen módosulás az eseményben az izom kalciumcsatornáinak megváltozott működésére utal, így ezek a változások közvetve tanulmányozhatók.

Az értekezés egy komplett munka, olvasója teljes és részletes képet kap a vázizom kalcium homeosztázist érintő minden eddig ismert tudásáról. A Jelölt az első perctől kezdve szerencsés részese volt ennek az elmúlt pár évtizedben végzett kutatásoknak, és matematikusi ismereteivel hatékonyan hozzájárult a Csernoch László professzor úr vezette vázizom *Kalciumhomeosztázis munkacsoport* nemzetközi szinten is ismert és elismert eredmények elérésében. Az értekezést átolvasva, teljes képet kapunk, sőt kijelenthető mindent megtudunk, ami eddig megtudható a vázizom kalcium homeosztázisról. Így az értekezés inkább tekinthető egyetlen terjedelmes témát bemutató saját kutatási eredményeken alapuló összegző dolgozatnak, mint egy tipikus MTA doktora értekezésnek. Ezt akár rendhagyónak is mondhatnánk, ugyanis az MTA doktori címre pályázók jellemzően 2-3 évtizedes tudományos kutatói tevékenységük ideje alatt több témával is foglalkoznak, így az MTA doktori értekezések is több, akár eltérő kutatási témákat ismertető összegző munkák szoktak lenni.

Szentesi Péter értekezése egy relatív homogén nem túl hosszú monográfia (az érdemi rész 73 oldal) amely 17 dolgozatra épül, amelyből 15 kiemelt Scimago D1/Q1 minősítésű. A jelölt 4-4 (vagyis összesen nyolc) dolgozatban senior szerző, vagyis első vagy utolsó szerző. Összes közleményeinek száma az értekezés benyújtásának idejében 75 volt, és ebből 17-et használt fel az MTA értekezésben bemutatott eredmények ismertetéséhez. Ellenőriztem és azt találtam,

hogy az értekezésben fel nem használt dolgozatok is jellemzően a kalcium homeosztázis vizsgálatának témaköréből készültek. Ha a teljes publikációs életművet értékeljük, kijelenthető, hogy tudományos dolgozatainak jelentős részeiben (közel felében) a Jelölt szenior első vagy utolsó/levelező szerzője, ami nemzetközi szinten is kiemelkedő. A dolgozatok jelentős része (54) vezető magas impakt faktorú, illetve Scimago D1, vagy Q1 folyóiratokban jelentek meg. A dolgozatok összidézettsége (független idézetek száma jelenleg közel 1500) is kiemelkedő, ugyanakkor a 24-es Hirsch index is azt jelzi, hogy egyrészt minden dolgozatot jelentős mértékben idéznek, illetve magas a kiemelkedő idézettséget mutató dolgozatok száma is. Utóbbiak, vagyis a 80 feletti idézetekkel rendelkező publikációk esetében (7 ilyen van) is ki kell emelni, hogy ezek között is jelentős a tisztán hazai munkából készült tudományos dolgozatok száma. Fentiek alapján kijelenthető, hogy Dr. Szentesi Péter a téma nemzetközi szinten is számon tartott szakértője. Jelen eljárásnak és bíráltnak már nem témája, de akkor is érdemes kiemelni, hogy a Jelölt tudományos habitusa is kiemelkedőnek tekinthető. Megállapítható, hogy a Jelölt tudományos munkássága egyértelműen megfelel az MTA Doktori Szabályzatában megfogalmazott, és azon belül is az Biológiai Tudományok Osztálya által támasztott ügyrendi követelményeknek.

Az MTA doktori értekezés részletes bírálata:

Formai és tartalmi szempontok:

Az értekezés 90 oldalnyi, magyar nyelven írott szövegből áll, az érdemi rész 73 oldalt tesz ki, melyet közel 100 (ha jól számoltam 96, ugyanis nincsen számozva) jól válogatott irodalmi hivatkozás egészít ki. A disszertáció megértését 38 ábra, 12 táblázat, illetve az értekezés végén egy függelék (Mathlab-ban készült saját kifejlesztésű mérőprogramok) segíti elő. A végén hozzászította az értekezést meghatározó 17 tudományos dolgozat különlenyomatát, amely összesen további 225 oldalt tesz ki. Pont ezért, jó lett volna, hogyha a szerző csatol egy oldalszámokat is jelölő közleménylistát, hogy az olvasó könnyebben megtalálhassa a megfelelő dolgozatot. Az értekezés logikusan szerkesztett, fejezetei kellő gondossággal íródtak, kivitelezése szemre is tetszetős. Az ábrák megfelelő méretűek, külön dicsérendő a színes fluoreszcens ábrák minősége, valamint a jól követhető, önálló megértést biztosító kellő részletességű ábrafeliratok léte. Az értekezés nyelvezete gördülékeny, én gyakorlatilag nem találtam említésre méltó gépelési hibát sem.

A Bevezetés rövid és tömör, de így is megfelelően ismerteti a vázizom felépítését, az elektromechanikai kapcsolódás (ECC) lényegét a kalcium homeosztázist, az azt meghatározó csatornák és receptorok leírását, és működésének elveit élet és kórélettani folyamatokban. Az ismertetés csak azokra az elemekre szorítkozik, amelyek szükségesek, hogy megértsük a dolgozat Eredmények fejezetben ismertetett kísérletek metodikai hátterét. A Célkitűzésekben röviden, 6 pontba felsorolva fogalmazza meg, hogy mi az értekezésben ismertetett eredmények célkitűzése és kérdésfelvetése.

Az Eredmények és Következtetések fejezet kifejezetten jó, tömör és cél vezérelt, mondhatnánk olyan, mint amit egy egyetemi doktori értekezésben szoktunk olvasni, legfennebb valamelyest kiterjedtebb, ami természetesen nem véletlen hiszen 17 dolgozatra épül, és nem a PhD értekezésekre jellemző maximum 1-3 dolgozatra. Bírálóként itt azt a kritikát fogalmaznám meg, hogy hiányoltam, hogy a Jelölt nem jelölte meg, hogy melyik eredmény melyik dolgozatban szerepel, ugyanis bírálóként meg kell győződnünk, hogy az ismertetett kísérletes eredmények valóban létező publikált kutatási eredmények.

A Jelölt 4 fejezetre osztva ismerteti eredményeit, és azoknak közvetlen diszkussszióját. Első körben ismerteti a tervezett kísérletes tervek elvégzéséhez szükséges metodikai fejlesztéseit, nevezetesen az elemi kalciumfelszabadulási események (ECRE-k) vizsgálatát lehetővé tevő

állatkísérletes modellek fejlesztését és validálását fiziológiás (1. fejezet) majd különböző vázizom betegségeket modellező nem fiziológiás körülmények között (3. fejezet).

Külön fejezet foglalkozik az ECRE-t működésének és működési zavarait módosító anyagok - vagyis lehetséges farmakonok hatásai- beavatkozási lehetőségeiről (2. alfejezet), majd a 4. alfejezetben végül megvizsgálta az ECRE változásait különböző génmódosítással kialakított izombetegségek körülményei között.

Kiváló megoldásnak tartom, hogy nem egy külön Diszkussziónak elnevezett fejezetben ismerteti az adott témák következtetéseit, hanem minden alfejezetben az eredményekkel együtt taglalja az adott kísérletes eredmények lehetséges következményeit, majd a végén egy önálló fejezetben ismerteti téziseinek összefoglalását és a saját új eredmények, illetve megállapítások felsorolását. Anno magam is hosszas elmélkedés után ezt módszert választottam MTA doktori értekezésemben, hogy kísérletes projektenként összevontam az összetartozó kísérletes eredmények és a hozzátartozó diszkusszió ismertetését.

Fentieket összefoglalva elmondható, hogy a bemutatott eredmények a Jelölt saját tudományos megfigyelésein nyugszanak, a Szerző meghatározó szerepét hangsúlyozza, hogy közleményei közül jellemzően első, illetve utolsó szerzős publikációkat használt fel az értekezés elkészítéséhez. Az alkalmazott módszertan megfelelően megválasztott, releváns optikai elektrofiziológiai és molekuláris biológiai modellek felhasználásával, vagyis a modern kísérletes tudományos kutatás technikai palettájának elfogadott eljárásai segítségével vizsgálódott. **Kijelenthető, hogy az értekezés egy gondosan megtervezett, koherens kutatási program megvalósítását mutatja be.**

Az értekezés átolvasása során a következő kérdések merültek fel bennem:

1. Kísérleteiben több állatkísérletes modellt dolgozott ki, ezek között van emlős (patkány és egér), kétélű (béka) majd rovar (háziméh) modell. Ismert dolog, hogy sok esetben még relatív azonos emlőscsoportokhoz tartozó fajok, mint pl. a rácsáló nyúl, tengerimalac és patkány között is jelentős különbség van a kalcium homeosztázisban, ezért kérdésként merült fel, a különböző RyR isoformák milyen módon járulnak hozzá az egyes fajokban a sparkok kialakulásához, morfológiájához vagy másképp megfogalmazva, hogyan lehet összehasonlítani a különböző állatmodellekben a kalcium sparkok kialakulásának módját és paramétereit?
2. Miért kellett, milyen szerepe volt a kémiai úton történő felszíni membrán eltávolításnak a sparkok vizsgálatában? Ez a kémiai beavatkozás nem befolyásolja a membrán működését és a sparkok kialakulását.
3. További természetes kérdés, hogy milyen folyamatok játszanak szerepet a sparkok kialakulásában és befejeződésében? Játsszik-e szerepet a sparkok kialakulásában, hogy milyen fajta izomsejten vizsgáljuk? Mennyire más a sparkok kialakulása működése illetve modulálása vázizomban, mint a szívizomban, ahol szintén fontos a sparkok szerepének a vizsgálata különösen a kalcium vezérelte aritmiák (DAD aritmiák) kialakulásában, illetve a spontán automatizmus szabályozásában.
4. Több izombetegség modellt (patkány szívinfarktus, hiperkoleszterémiás patkány, hiper-muszkuláris egér, miotubuláris miopátia stb) vizsgált meg a Jelölt és jellemzően az lett az eredmény, hogy növekedett ezen állatokban az ECRE-k elemi kalcium-felszabadulási események száma. Kijelenthető, hogy ez egy általános jelenség, és ha igen, akkor ez egy lehetséges farmakológiai támadáspont lehet, és mint olyan akkor diagnosztikai lehetőséget is rejt magában a sparkok vizsgálata? Ha igen, vannak-e erre irodalmi utalások, terápiás fejlesztések, lehetséges mellékhatás spektrum, stb ?

5. Az értekezésben olyan kísérletek eredményeit is olvashattuk, amelyek bemutatják a skorpió (*Scorpio maurus palmatus*) toxinjából izolált Maurocalcin (MCA) fehérje hatásait az ECRE-re béka izomrostokra. Szeretném megkérdezni a Jelöltől, hogy vannak-e más toxinokkal, vagy természetes hatóanyagokkal készült vizsgálatok, amelyek megváltoztatják a sparkok számát és morfológiáját?

Új tudományos eredmények összegzése:

A Jelölt 7 alpontba szedve, mértéktartó módon foglalja össze az értekezés legfontosabb észleléseit. Érdemes lett volna megfogalmazni maximum 3 pontban kiemelni a legfontosabb eredményeit úgy, hogy annak megfogalmazása egyrészt legyen érthető a szélesebb olvasóközönségnek is, beleértve ezek esetleges gyakorlati hasznát is. Javaslom, hogy utóbbi feltétlenül tegye majd meg az MTA értekezésének Nyilvános vitáján bemutatott tudományos előadása során.

Fentiek közül a következőket fogadom el a Jelölt legjelentősebb önálló, új tudományos eredményeként (az első kettőt összevontam):

Kísérletes tevékenysége az a spontán módon kialakuló elemi kalciumfelszabadulási eseményeket (ECRE) vizsgálta különböző preparátumokon és eltérő körülmények között. A következő fő megállapításokat tette.

1. Kidolgozták az egyedi vázizomrostok enzimatis preparálásának módszerét békákból, patkányokból, egerekből és házi méhekből. Megvalósították az ECRE-k optimális mérési eljárását egyedi vázizomrostokon konfokális lézerpásztázó mikroszkópon, és kifejlesztettek két wavelet alapú automatikus ECRE felismerő programot, amelyek lehetővé teszik egyrészt vonal-menti (line-scan), másrészt kétdimenziós (XY) pásztázással készült konfokális mikroszkópos felvételeken nagyszámú esemény automatikus detektálását és elemzését.
2. Kimutatták, hogy békák harántcsíkolt izomrostjaiban a kisfokú depolarizáció és a koffeinnel való kezelés különböző hatásmechanizmussal, de emeli a sparkok frekvenciáját és amplitúdóját. Egészséges izomrostban a sparkok egyenletesen oszlanak el, nincsenek kitüntetett helyek az elemi kalciumfelszabadulási események szempontjából.
3. Emlősök vázizomrostjain bebizonyítottuk, hogy egyetlen rianodin csatorna megnyílása embert eredményez, nem pedig sparkot. A különböző típusú események alatt felszabadult kalcium mennyiségéből megbecsülték, hogy kb. 30 RyR csatorna egyidejű megnyílása hoz létre egy átlagos sparkot.
4. Humán miopátiák egérmodelljeiben megállapították, hogy az MTM1 gén hiányában a T-tubuláris rendszerben kialakuló változások a RyR1-k abnormális aktiválódását eredményezik, ami megmagyarázza az SR-ből történő kalciumfelszabadulás csökkenését és a betegekben az izomerő hanyatlását. A sérült belső struktúrájú izomrostokon a sparkok kialakulásának helyei nem egyenletesen oszlanak meg, a T-tubulusok hiányában a RyR1 könnyebben megnyílnak. A DNM2 gén mutációja pedig jelentős számú ECRE kialakulását eredményezi a nyugalomban levő vázizomrostokon, ami szintén megmagyarázhatja a betegekben a csökkent vázizomműködést. A humán betegségekre jellemző PtdInsP-k kóros felhalmozódásáról kimutatták, hogy csökkenti a rianodin receptoron keresztüli Ca^{2+} -felszabadulást.
5. A vázizmokat közvetlenül nem érintő két kórfolyamatot vizsgálva kimutatták, hogy az infarktuson átesett patkányok vázizomrostjain az emberek relatív aránya megnőtt, a sparkok amplitúdójuk kisebb lett, lassabban alakultak ki és az egy spark alatt kiáramlott Ca^{2+} mennyisége lecsökkent. Ez megmagyarázhatja a károsodott vázizomműködést szívinfarktus után. Bebizonyították, hogy amíg a hiperkoleszterinémia patkányokban nem változtatja meg a sparkok frekvenciáját, addig a fluvastatin függetlenül a vér koleszterinszintjétől, növeli a

sparkok gyakoriságát a vázizomrostokban, így okozva izomgyengeséget, amely hatás megelőzhető a koenzim Q10 étrendbe történő alkalmazásával.

6. A vázizmokat érintő genetikai mutációk vizsgálata során egerek vázizmaiban azt találták, hogy a miosztatin gén károsodása után csökken az ECRE-k száma és kisebb az eseményenként felszabaduló kalcium mennyisége. Kimutatták, hogy magas extracelluláris Ca^{2+} -koncentráció jelenlétében az embrionális CaV1.1e kalciumcsatornát tartalmazó vázizomrostokon nyugalomban sparkok alakulnak ki. Az SR normális elhelyezkedését biztosító Ankirin1 fehérje hiányában pedig kevesebb és kisebb amplitúdójú sparkot találtunk, ami azt jelentheti, hogy minden vizsgált mutáció az SR-ből felszabadítható Ca^{2+} mennyiségét csökkenti vagy a kalciumcsatornák nyitását akadályozza, ami gyengült izomműködéséhez vezet.

A korábban ismertetett érdeklődő kérdések nem befolyásolják az értekezéssel kapcsolatos általános véleményemet, miszerint a bemutatott eredmények egy az orvostudományok igen fontos területén végzett és ismereteinket kiterjesztő szintetizáló értékes kutatói munka összefoglalása. Az értekezésben megfogalmazott eredmények és következtetések messzemenően teljesítik az MTA doktora cím elnyerésért meghatározott követelményeket, ezért, **a nyilvános vitára bocsátását feltétlenül javaslom, valamint sikeres védelem esetén a Jelöltnek az MTA Doktori tudományos cím megítélését támogatom.**

Szeged, 2026. február 12.

Dr. Jost Norbert László
az MTA doktora