

Bírálat

Dr. Rakonczay Zoltán

**„Kísérletes akut pancreatitis: patogenezis és terápiás célpontok vizsgálata” című
MTA doktori értekezéséről**

Dr. Rakonczay Zoltán 2012-ben a Magyar Tudományos Akadémiához benyújtott doktori értekezése tudományos kutatási eredményeinek részletes ismertetését tartalmazza. A jelölt kutatásainak az irodalmi háttérét, saját eredményeit és azok hazai és nemzetközi adatokkal történő összehasonlítását színvonalasan összefoglalt formában ismerteti.

Rakonczay Zoltán kutatásainak középpontjában a pancreatitis kialakulásának modellezése, ezek alapján ezen egyre gyakoribb és növekvő fontosságú betegség patomechanizmusának megismerése, esetleges új terápiás módja áll.

Rakonczay Zoltán a Ph.D. dolgozat benyújtását követően több mint 10 éves kutató munkája során saját non-invazív L-ornitin kezelés alapján pancreatitis modellt dolgozott ki, majd hasonlította össze korábbi modellekkel. Terápiás célpontokat azonosítva vizsgált meg új lehetséges terápiás modelleket.

Az értekezés a több mint 10 éves kutató munkáját foglalja össze 110 oldalban. Irodalmi hivatkozása teljesen lefedi a témához közel és távol felmerülő kapcsolódási pontokat. Az értekezés 50 ábrát és 7 táblázatot tartalmaz.

Az értekezéssel kapcsolatos formai megjegyzések

Az értekezés magas színvonalú. Nyelvezete érthető, tiszta, követhető. Nyelvi hibákat nem tartalmaz. Ábrái a megfelelő helyeken segítik az olvasót a mélyebb megértésben.

A vizsgálatokkal, eredményekkel kapcsolatos megjegyzések, kérdések

Rakonczay Zoltán vizsgálataiban során a nem-invazív pancreatitis állatmodellek terén dolgozott ki, ért el új, áttörő, a hazai és nemzetközi tudományos életben elismert, citált és alkalmazott ismereteket, terápiás célpontokat. A nagydoktori értekezés értékei közé tartoznak komplex célkitűzése: 1.: új modell rendszer kidolgozása, 2.: a modell rendszerek működésének leírása, jellemzése, 3.: terápiás célpontok, mechanizmusok azonosítása, vizsgálata, tesztelése.

Rakonczay Zoltán vizsgálataiban során elismerésre méltóan alkalmazza az állatkísérletekben lehetséges makroszkópos, mikroszkópos, funkcionális vizsgálatok széles repertoárját. A vizsgálatok során a lehetséges gyógyszer hatáspontok azonosítása után szintén modell kísérletekben elvégezte a hatásvizsgálatokat.

A nagydoktori dolgozat általánosságban azonban néhány hátrányosságtól szenved: felmerül a metodikai egységesség hiánya. Az egyes fejezetek, közlemények között bár ugyanazon témakört, célt tűzik ki, úgymint: pancreatitis modell kidolgozása, vizsgálata más-más molekula alkalmazásával, a dolgozatban, illetve a közleményekben különböző módszerek jelennek meg. Ez az eredmények egységességének megítélését nehezíti. A molekuláris biológiai módszerek hiánya feltűnő: RT-PCR, kvantitatív PCR technikák, szekvenálási és

metilációs módszerek alkalmazását lehet javasolni. A jelölt módszereiből hiányoznak a párhuzamos, akár teljes genom vizsgálatára is alkalmas RNS és DNS technikák, amelyekkel pl. a humán és non-invazív patkány pancreatitis modellek vizsgálata, összehasonlítása lehetővé vált volna. Hiányolom a szövettani vizsgálatok reprodukálhatóságát lehetővé tevő kvantitatív morfológiai és szövettani mérések alkalmazását.

A *bevezetés, irodalmi áttekintés* tematikus, logikus, tiszta. Alapokat ad a szokatlanul rövid, de ezért jól áttekinthető és követhető *célkitűzés* fejezetre. Ki szeretném emelni az 1-es és 2-es ábra jó elhelyezését, amivel a témában nem aktív olvasónak nagy segítséget ad.

Az *anyagok és módszerek* fejezet összefoglaló jellegű, azaz az egész *eredmény és diszkusszió* fejezetet lefedi. A nagydoktori dolgozat megítélésében az első és döntő lépcső a hosszú évek munkája szintetizációjára, követésére vonatkozó, ezen fejezet. A jelölt jól, tematikusan, követhetően foglalta össze állatokon végzett vizsgálatainak módszereit, eredményeit.

Az olvasó itt és az *eredmények* fejezetben utalást talál arra, hogy hány állaton végezték el az egyes kísérleteket. 4 – 12, az esetek többségében 6 állat volt egy-egy csoportban. A kontroll csoportra vonatkozóan kevesebb információt találtam. Feltételezem, ez is hasonló nagyságú volt. A 6 állat a minimálisan elfogadható szám, ezt a vizsgáló teljesítette. Az *anyag és módszerek* fejezetben a statisztika leírása rövid, az alkalmazott eszközre, programra nincs utalás.

Az *1. fejezetben* az alifas és imidazol oldalláncú aminosavak által okozott pancreatitis modellek alkalmazhatóságát vizsgálja a jelölt. Itt megállapítható, hogy ezen modellek a humán pancreatitis-hez való molekuláris szintű hasonlóságát teljes genom mRNS expressziós vizsgálattal talán javasolt lenne megtenni. Ehhez a Szegedi Tudományegyetemen, a jelölt munkahelyén adottak a lehetőségek. Érdekes, hogy az L-citrullin nem okozott makro- és mikroszkopikus pancreatitis-t, funkcionális és enzim elváltozásokat. Felvetődik a kérdés: mi lehet ennek a magyarázata? Alacsony koncentráció? Strukturális különbség?

A *2. fejezet* dózis- és időfüggőségi vizsgálatokat tartalmaz. A 4g/kg L-arginin nem okoz I κ B és NF κ B aktivációt. Szintén a 4g/kg L-arginin alkalmazása esetén a HSP fehérjék szintje alacsonyabb a 3g/kg L-arginin terápiához képest. Mi lehet ennek a dóziszfüggetlen hatásnak a magyarázata?

A pancreaticus TNF-alfa és IL-1 β szintben különbséget talált a jelölt. Miért maradhat fent a TNF-alfa szint a 18-36 órás hatás ablak után is? Érdekes volt olvasni, hogy az L-Arginin kezelés után a szérum L-ornitin szint 54-szeresére, míg az L-arginin csak 25-szeresére nő. Ez nem veti fel az L-ornitin lebomlás gátlódását?

A *3. kutatási fejezet* az L-ornitin hatását taglalja. Kiemelendő, hogy Rakonczay dr. alapvető eredménye az L-ornitin pancreatitis modell leírása, kidolgozása, közlése. Itt már részletes állatklinikai, makroszkópos, mikroszkópos és a már korábban leírt funkcionális vizsgálatokat és ezek eredményeit is megismerjük. A laborparaméterek vizsgálata kapcsán felmerül a se-Amiláz és tripszin szintek változása közötti időbeni eltolódás. Ennek magyarázatára kíváncsi a bíráló. Az apoptózis meghatározásra 2 módszert alkalmazott a jelölt. A 24 órás időintervallumban az elektroforetikus assay a legnagyobb aktivitást mutatta, a tunnel azonban a legkisebbet. Mi lehet ennek a magyarázata?

Az L-Lizin által kiváltható pancreatitis jellemzőit mutatja be a 4 kutatási fejezet (5.2.3.).

A 4.5 g /kg-os dózis halálosnak bizonyult minden állatnál. Az eredmények alapján az L-lizin kisebb dózisban nagyobb károsodást tud okozni mint az L-arginin, vagy L-ornitin. Érdekes módon szövettanilag azonban kevesebb az apoptózis az előbbi modellekhez képest. Lehetséges, hogy az L-lizinnak a pancreas mellett más szervi hatása erősebb? Rakonczay doktor az L-lizin hatását új módszerekkel is vizsgálta, bizonyította.

Mi az oka, hogy például a mitokondrium funkció változás méréseket csak itt alkalmazta?

Az 5. *eredmény* fejezet az argináz enzim gátlás lehetőségeit mutatja be az L-arginin pancreatitis modellek vizsgálatában.

Összehasonlítva az első kutatási fejezetben közölt eredményekkel, érdekes látni, hogy a se-amiláz szint itt csökkent és nem szignifikánsan emelkedett. Mi lehet ennek az oka?

Lehet az argináz gátlásnak humán klinikai alkalmazási lehetősége?

Az olvasó várna ebben a fejezetben valamiféle állatklinikai összefoglalót, vajon a kezelés javította-e az állatok állapotát?

A 6. *eredmény* fejezet (5.4) bemutatja a poliaminok szintjének változását L-ornitin kezelés kapcsán. Az ornithin decarboxylase aktivitás-mérés ebben a fejezetben megvalósul. Növekedést mutat. Az összpoliamin szint csökken, de ezen belül a spermidin, spermin szintek különböző módon változnak.

A beadott L-metilspermidin hatására a spermin és spermidin szintekben a kezeléssel azonos irányú változások alakultak ki. A se-amiláz, lipáz szintekben sem sikerült pozitív hatást kimutatni.

Érdekes módon az utókezelés adta a legtöbb vizsgált paraméter esetén a legnagyobb inverz reakciót. Van a jelöltnek erre magyarázata?

Az NF-kB aktivitáció-gátlás lehetősége kapcsán a jelölt L-arginin modellt vizsgált. Két molekulát alkalmazott. A már klinikailag ismert és alkalmazott methylprednizolon mellett a pirrolidin-ditiokarbamát molekula hatását vizsgálta. Érdekes módon a methylprednizolon dózisfüggő hatásával szemben a PDTC 100 mg/kg-os adagja már emelte az NF-kB szintet.

Összefoglalva: Az értekezés a kutatómunka bemutatásával tükrözi annak a folyamatnak, amelyen keresztül Rakonczay doktor egyre mélyebb, egyre komplexebb kutatási feladatokra egyre szofisztikáltabb módszerekkel, kísérleti tervvel eredményesen adta meg a válaszokat.

Rakonczay Zoltán saját, új eredményeinek az alábbiakat ismerem el:

Kimutatta, hogy az intraperitonealisan alkalmazott L-ornitin és L-lizin nagy dózisban képes pancreatitis-t kiváltani.

Először írta le ezen bázikus aminosavakkal kiváltott akut pancreatitis a betegségre jellemző fő elváltozásokat mutatja.

Módszert dolgozott ki az argináz enzim gátlására a pancreatitis modellben.

Kimutatta, hogy az argináz gátlás csökkentheti a pancreatitis súlyosságát.

Alkalmazta a PDTC és methylprednizolon molekulákat az akut pancreatitis súlyosságának csökkentésére, NF-kB célzott aktiváció gátlására.

Az értekezésről összességében elmondható, hogy igen fontos vizsgálatokat mutat be, nemzetközileg is érdekes módszereket fejlesztett ki a jelölt, melyek egy része már laboratóriumokban is alkalmazást nyert. A munka minden tekintetben eleget tesz a MTA doktora cím elnyeréséhez támasztott követelményeknek. Ezért javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását, és sikeres védelem esetén az MTA doktora cím odaítélését.

Budapest, 2012. október 12.

Dr. Molnár Béla
tudományos tanácsadó
az MTA doktora