

Bírálat Dr. Wikonkál Norbert „A keratinociták fiziológiás és patológiás változásai környezeti hatásokra és ezek szerepe bőrtumorok kialakulásában” című MTA doktori értekezéséről

Wikonkál Norbert 2011-ben az MTA-hoz benyújtott doktori értekezése tudományos kutatási eredményeinek részletes ismertetését tartalmazza. A jelölt kutatásainak irodalmi háttérét, saját eredményeit és azok hazai és nemzetközi adatokkal történő összehasonlítását gazdagon illusztrált ábra anyag kíséretében ismerteti. A tézisekben a szerző 2001-2010 között megjelent tudományos eredményeit foglalja össze, melyek a 2000-ben védett PhD munka folytatásaként születtek.

Érdeklődésének és vizsgálatainak középpontjában az ultraibolya sugárzás indukálta különböző szintű és jellegű DNS károsodások következtében kialakult kórképek patomechanizmusának és ezek jövőbeli terápiás lehetőségeinek megismerése áll.

Komplex módszertani megközelítésekkel tanulmányozta az UV sugárzás DNS károsító hatásaira aktivizálódó védekezés molekuláris elemeit az apoptózison keresztül, vizsgálta a keratinociták alapvető funkcióit (hypoxia stresszre mutatott válasza, terminális differenciáció). Központi szerepet kapott az értekezésben a p53 gén és az E2F-Rb komplex szerepének vizsgálata. Az UV sugárzás hámsejtekre gyakorolt hatásának vizsgálata során tanulmányozta, hogy egyes szfingolipid derivátumok milyen gén expressziós változásokat idéznek elő teljes genom szintjén. Fontosak azok a vizsgálataik, melyek a PTCH gén 1315-ös kodonjának polimorfizmusa és a non-melanoma bőrtumorok kockázata közötti összefüggések megállapítására irányultak.

A dolgozat molekuláris szintű megközelítését adja a dolgozatban szereplő dermatológiai kórképeknek, modern szemléletet tükröz, számos molekuláris biológiai, sejtbiológiai módszer alkalmazásával olyan szintű eredményeket ért el, melyeket igen nívós folyóiratokban közölt.

A tézisek alap pillérét nyolc közlemény adja, melyekhez jól illeszkednek a korábban megjelent közleményei is. Az értekezésben összefoglalt eredmények közül feltétlenül ki kell emelni azt a két közleményt, melyek közül az egyikben utolsó szerző a jelölt, ez a Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America folyóiratban jelent meg (IF: 10,896), melyre eddig 70 független idézetet kapott a szerző. A másik közlemény, melyben a jelölt első szerző a Nature Cell Biology folyóiratban jelent meg (IF: 20,268), erre a közleményre eddig közel 40 független idézet érkezett. A többi közlemény impakt faktora is 3 és 6,5 között változik. A tézisek alapját képező közlemények összesített impakt faktora: 55,059, melyekre eddig a független hivatkozások száma: 175. A jelölt az értekezésben összefoglalt közleményeken kívül szakterületén hazai és nemzetközi folyóiratokban megjelent közleményeinek összesített impakt faktora az MTMT adatbázis szerint 71,929, melyekre az összes független idézetek száma 386. A tudományos folyóiratokban megjelent közleményei mellett 6 könyvfejezet szerzője.

Az értekezés formailag megfelel az MTA doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeknek. Az értekezés formai részével kapcsolatban néhány kisebb hibára hívom fel a figyelmet a későbbi, kritikai megjegyzéseim során.

Az MTA doktori értekezés teljes terjedelme 149 oldal, mely az alábbi felépítést követi:

- 5 oldal: részletes, az egyes alfejezeteket is bemutató tartalomjegyzék,
- 2 oldal: áttekintő összefoglalás,
- 34 oldal: bevezetés és irodalmi áttekintés, mely fejezetben a szerző könnyen követhető módon először a betegségek klinikai relevanciáját, a vizsgált kórképek klinikumát foglalja össze, részletesen kitérve a
 - nem-melanoma bőrdaganatok (spinalioma és basalioma) klinikai megjelenésére, különbségeire, kialakulásuk, klinikai viselkedésük és progressziójuk hátterében álló eddigi ismeretekre, molekuláris eltérésekre,
 - DNS hibajavító mechanizmusok defektusai következtében kialakuló betegségek klinikai formáira és genetikai eltéréseire,
 - nevoid basalsejtes karcinóma szindrómákra,
 - az ultraibolya sugárzás DNS károsító hatásaira,
 - programozott sejthalál, hypoxia, D vitamin, szerepére,
 - valamint a különböző, UV sugárzás indukálta molekuláris eltérésekre.
 - Elemzi a keratinociták funkcionális szerepére vonatkozó eddigi ismereteket, a terminális differenciációban résztvevő fehérje és lipid komponensek szerepét.
- A bevezetésben és irodalmi áttekintésben összefoglalt ismeretek képezik alapját a nyolc pontban összefoglalt célkitűzéseknek.
- Az anyagok és módszerek fejezetben 12 oldalon ismerteti az alkalmazott kísérleti modellrendszereket (humán szövetek, kísérleti állatok, sejt- és szövetminták és *in vitro* és *in vivo* kísérleti rendszerek), a minták kezelésének leírását, részletezett molekuláris biológiai technikákat és a statisztikai módszereket. Ez a részletesség arról tanúskodik, hogy a vizsgálatokban meghatározó szerepet játszott.
- Az eredményeket közel 60 oldalon foglalja össze, ez a fejezet tartalmazza az egyes vizsgálatok eredményeinek irodalmi adatokkal történő összevetését, diszkusszióját is. Az eredményeket a célkitűzéseknek megfelelően 8 nagy részben ismerteti.
- Eredeti tudományos eredményeit 2 oldalon foglalja össze, ezt követi az eredmények lehetséges gyakorlati alkalmazásainak leírása.
- Kicsit szokatlan módon a dolgozat végére került a rövidítés jegyzék, melyet könnyebben kezelhetőnek tartok, ha a dolgozat legelején van összefoglalva. Az irodalmi hivatkozások száma 365. A szöveges rész megértését számos ábra és táblázat segíti. Hiányoltam, hogy a tézisekben szereplő közlemények nem voltak csatolva a dolgozathoz, ez egy kicsit megnehezítette a bírálói feladatot.

Figyelembe véve, hogy a bőrdaganatai, a bőr különböző léziói a leggyakoribb elváltozások közé tartoznak, ezeknek a változásoknak a háttérben álló molekuláris eltérések megismerése, progressziójukat kísérő molekuláris célpontok azonosítása fontos kutatási területeket érint. Az alkalmazott molekuláris biológiai módszerek sokfélesége lehetőséget adott a jelölt számára a kitűzött komplex célok megvalósítására. Ezeknek a megközelítéseknek az összehangolt alkalmazása tette lehetővé, hogy olyan eredmények szülessenek, melyeket a világ vezető szakfolyóirataiban (Nature Cell Biology, PNAS, Oncogene és a Journal of Investigative Dermatology) tudott közölni.

A dolgozatban fellelhető gépelési hibák részletes ismertetésétől eltekintek. A gének írásmódja nem következetes. A rövidítésjegyzék nem teljes. Az ábrák szerkesztése egységes, azok megértését a részletes ábraszövegek segítik, habár megjegyzem, hogy néhány ábránál (pl. 5.4.1. és 5.4.2.) az ábrák címe nem teljesen informatív, ezt az ábra leíráshoz tartozó szöveges kiegészítés érthetőbbé tesz. Az irodalmi adatok között jelentős számban elsősorban régebbi hivatkozások szerepelnek, érdemes lett volna a korábban közölt eredményeket a később közölt adatokkal, eredményekkel összehasonlítani.

A dolgozatban ismertetett eredmények közül kiemelem az alábbiakat:

1. Állatkísérletek során bizonyította, hogy a sunburn-sejt (napégette-sejt) képződés védi az epidermiszt a DNS károsodások további patológiás következményeitől, protektív szerepe van a daganat kialakulás szempontjából. A Trp53 funkciójának szabályozásában az Mdm2 fehérje jelentős szerepet játszik.

A legújabb vizsgálatok mennyiben támasztották alá az állati modellrendszerekben tett megfigyeléseket?

2. A krónikus UV-besugárzást modellező kísérletei során bizonyította, hogy a az epidermiszben kialakult mikroszkopikus méretű daganatok p53 mutációt hordoznak, és szerepük van a daganat iniciáció mellett a daganat progressziójában is.

A p53 mutáció mellett milyen más olyan géneltéréseket írtak le, melyek meghatározóak a tanulmányozott bőrdaganatok kialakulásában? Milyen bizonyítékok vannak az „incipiens tumor előalakok” (p53 mutációt tartalmazó klónok?) daganatprogresszióban betöltött szerepére vonatkozóan?

3. Fontosnak tartom azt a felismerést, melynek értelmében keratinocitákban az E2F1 szerepet játszik az UVB indukálta apoptózisban. Továbbá E2F1 és p53 együttes hiánya fokozott apoptózis készséget eredményez.

A dolgozatban a nem-melanoma bőrdaganatok jellegzetességeivel foglalkozik, érdekelne, hogy milyen szerepe van az E2F1-nek melanomákban, hiszen az UV sugárzás szerepe ezekben a daganatokban vitathatatlan?

4. Érdekesesek azok a megfigyelések, melyek keratinociták differenciálódásában szerepet játszó gének szerepére utalnak. Különösen kiemelendők azok, melyeket mind gén,

mind fehérje szinten validált (hem-oxigenáz HMOX1; glutaredoxin GLRX; forkhead boks-Q1 FOXQ1; plakophilin-3 PKP3). Különösen fontosak azon a gének szerepének felismerése, melyek terápiás targetként szolgálhatnak.

5. Különböző szfingolipid származékokról megállapította, hogy azoknak keratinocita differenciációt moduláló hatásuk van. Bizonyította, hogy egyes származékok számos gén expressziójának megváltozását eredményezik. A különböző szfingolipid vegyületek közül a fitoszfingozin-szalicilát és a szfingozin-szalicilát tűnik leginkább alkalmasnak bőrgyógyászati és kozmetológiai, klinikai felhasználásra.

A bőrgyógyászati alkalmazás mellett milyen más klinikai alkalmazása lehetséges a szfingolipideknek?

Összefoglalva az értekezés számos olyan megfigyelést tartalmaz, melyet a jelölt különböző megközelítésekkel igazolt. A jelölt által összefoglalt új eredmények jelentős részét leköszölte. Számos, a közlemények megjelenésekor igazán unikálisnak számító megfigyeléssel gyarapította és kísérletesen igazolta az UV indukálta bőrdaganatok (non-melanoma) jellegzetes molekuláris eltéréseit és eredményeire támaszkodva lehetséges kezelési lehetőségek is megfogalmazott.

Az értekezésben összefoglalt közlemények tudományos eredményeit, a disszertációt alkalmasnak tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez.

A fentiek alapján javaslom a nyilvános vita kitűzését.

Debrecen, 2012. október 7.

dr. Balázs Margit
egyetemi tanár
az MTA doktora