

T.c.:

Dr. Palkovics László Amand
az MTA Doktora
titkár

BÍRÁLÓI VÉLEMÉNY

Zádor Ernő: "*Vázizom regeneráció és transzgenézis*"
című MTA Doktori dolgozatáról

Zádor Ernő dolgozatot nyújtott be az MTA Doktora cím elnyerésére. A dolgozat az elmúlt megközelítőleg két évtized kutatásainak az eredményeit foglalja össze. A kutatások a kezdetektől fogva egy jól látható rendszer szerint, átgondoltan és eredményesen zajlottak. Első lépésként a pályázó létrehozott egy olyan *in vivo* modellt, amelyben az izom károsodása ellenőrzött és reprodukálható módon idézhető elő. Ennek a kígyóméreg (a hatóanyag a notexin) alkalmazásán alapuló módszernek a hatásait külön kísérletsorozatban, mind a gyors, mind a lassú izmok vonatkozásában részletesen leírta. Ezt követően a kísérletek középpontjába azok a folyamatok kerültek, amelyek a károsodott izom regenerációjában játszanak fontos szerepet. Ezen kísérletek eredményeiből megismerhetjük azokat a fehérjéket, faktorokat, amelyek jelenléte, feltermelődésük és eltűnésük kinetikája jelentősen befolyásolja a regenerációt. Ugyancsak érdekes összefüggések kerülnek napvilágra az adott faktorok mRNS és fehérje szinten való megjelenésével kapcsolatban. A pályázó folyamatosan és gondosan ügyel arra, hogy a kísérleteket a szerkezetük és funkciójuk szerint is jól elkülönülő gyors és lassú izmokra vonatkozóan is elvégezze, és az így kapott eredményeket kritikus elemzésnek vesse alá. Mindezek alapján hosszú évek szisztematikus gondolkodását és kísérletes munkáját, és egymásra épülő, a végén logikus egységet formáló eredményeit ismerhetjük meg a dolgozatban.

A pályázó 117 oldalon keresztül, magyar nyelven ismerteti eredményeit és gondolatait. Betűhibák és elütések vannak a dolgozatban, de nem nagy számban, és nem értelemzavaró módon jelentkeznek. Az Előszót követően az Irodalmi áttekintés fejezetben részletesen megadja



az izom regenerációval kapcsolatos korábbi ismereteket. A fejezet kifejezetten jó stílusban, érdekes tálalásban mutatja be ezt a tudományterületet mind a biokémiai, mind az élettani vonatkozások tekintetében. Ezt a célkitűzések részletes felsorolása, majd a Módszertani összefoglaló követi. Az utóbbi alapos, gondos leírásokat ad, a kísérletekhez használt módszerek és kiegészítő eljárások jól követhető módon kerülnek bemutatásra.

Ezt követően a kutatások eredményeit 37 oldalon ismerhetjük meg, ábrákkal gazdagítva. Ez a fejezet – részben szerepe és természete miatt – már egy nehezebben élvezhető olvasmány. A rengeteg adat és összefüggés ismertetése logikus rendben, egymásra épülve tárul elénk és egyértelműen azt a benyomást kelti, hogy egy jól felépített és hosszú távú koncepció mentén folytak a kutatások. Az ábrák feliratozása sok esetben angol nyelvű, érdemes lett volna magyar ábrákat szerepeltetni. Másfelől, nagyon sok az apró, kisméretű ábra, ahol a pontos megértést a bemutatott illusztráció és felirat mérete megnehezítette. A szöveg könnyebb megértését segítette volna, ha a szerző több értelmező szakaszt beépített volna. Ilyen lehetett volna például annak a rövid összefoglalása, hogy miért érdekes összehasonlítani a nyugalmi, nyújtott és passzívan mozgatott izmokban tett megfigyeléseket. Az eredmények részletes bemutatása után a szerző az eredmények megbeszélésével folytatja dolgozatát. Ebben a fejezetben helyenként hiányoltam a különböző megfigyelések szintézisére való törekvést, esetenként pusztán az eredmények újbóli ismertetése került elő. Összességében ugyanakkor a fejezet olvasása után a megfigyelések átfogó és pontos értelmezése rajzolódik ki, amelyet gondosan megválasztott összefoglaló ábra (44. ábra) is segít megérteni.

A dolgozatban ismertetett eredmények izgalmasak, színvonalasak. A jelölt téziseit elfogadom, új tudományos eredményeit a következő pontokban foglalom össze:

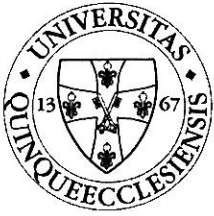
1. Új *in vivo* modellt hozott létre a notexin által kiváltott nekrozist követő izomregeneráció tanulmányozására.
2. Megfigyelte és részletesen is leírta, hogy lassú és gyors izmokban a regeneráció időbeli lefutása eltér.
3. Megállapította, hogy a miogenikus szabályozó faktorok mRNS szintjei eltérnek a gyors és lassú izmokban.
4. Az izomregenerációban a myoD fehérje maximális szintje egybeesik a sejtosztódás első maximumával.



5. A miogenikus szabályozó faktor mRNS-ek és myoD fehérje szintjei egyenletes eloszlásúak és egyenletesen növekednek passzív nyújtás hatására a soleus izom-ín határok között.
6. Az izom növekedést gátló faktor, a myostatin szintje izomnekrózis alatt nagymértékben megnő, míg izomregenerációban lecsökken.
7. A TNF- α mRNS és fehérje szintje párhuzamosan változik az izom regenerációja során, a nekrosis ideje alatt nagymértékben megnő, majd a miotubulusok megjelenése után a normálhoz közeli értékre csökken.
8. A szarkoplazmás retikulum SERCA (kalcium adenozin trifoszfátáz) izoformáinak változása az izom regenerációja során megismétli a neonatális fejlődés állomásait.
9. A SERCA2a kifejeződése a lassú miozinnal ellentétben nem függ direkt módon a beidegződéstől az izom regeneráció során.
10. Az innervált regenerálódó soleus izom domináns negatív Ras-t kifejező plazmáddal történt transzfekciója nem befolyásolta a SERCA2a kifejeződést, ellentétben a lassú miozin kifejeződésével, amit meggátol.
11. A lassú izomban a regeneráció alatt a kalcineurin gátló cain peptidet kifejező plazmáddal való transzfekció során a lassú miozin kifejeződése gátolt, de a SERCA2a kifejeződése nem változott.
12. A lassú izom differenciálódás két fontos jelátviteli útja, a Ras és a kalcineurin utak között kapcsolat állhat fenn.
13. Ha a SERCA1b kifejeződését csak néhány izomrostban csendesítették, az is az egész izomra jellemző növekedést serkentő hatást eredményezett.
14. Megfigyelte azt is, hogy transzfekció után a pozitív rostokban kevesebb izomsejtmag fejezte ki a transzgént, mint azt az injekció helyén becsülni lehetett.

Az értekezés olvasása közben a következő kérdések jutottak eszembe:

1. Mennyire jó a roncsolt izom létrehozására kifejlesztett, notexin alapú módszer? Kérdésemet úgy értem, hogy az így kialakuló roncsolás mennyiben felel meg a mechanikai sérüléseknek, vagy izombetegségek során kialakuló sérüléseknek? Voltak esetleg olyan összehasonlító kísérletek, ahol a roncsolást alternatív módszerrel (pl. fagyasztással) végezték?



2. Milyen közelítéssel, milyen megfontolások mentén lehet a megfigyeléseket az emberi izomszövetben lezajló folyamatokra is vonatkoztatni? Vannak esetleg olyan kísérleti eredmények, amik a megfeleltetés mértékére vonatkozóan támpontot adhatnak?
3. Esetenként a szerző megállapítja, hogy a vizsgált mRNS vagy fehérje szintje a regeneráció során nem érte el a roncsolódási előtti szintet. Ilyen például a 10. ábrán a myoD szintje. Itt ugyanakkor azt látjuk, hogy ez a megállapítás csak az adott vizsgálati periódus végén igaz, nem derül ki, hogy mi lett volna az utolsó, 28. nap után. Lehetséges az, hogy egy hosszabb periódus letelével ezek a szintek beállnak a normális, roncsolódás előtti értékre?
4. Mi lehet annak a magyarázata, hogy ha a soleust szelektíven denerválták, a lassú miozin izoforma nehézlánca nem volt kimutatható az izomban? Milyen miozin izoformák voltak ekkor dominánsak?
5. A myoD fehérje szintje már a regeneráció első napján megemelkedett (72. oldal), amit a szerző azzal magyaráz, hogy a környező izmokból a szatellitasejtek / miogenikus prekursorok a nekrotizáló izomba vándoroltak. Mi a molekuláris háttere, hajtóereje ennek az irányított vándorlásnak?
6. A myostatin transzkript szintje emelkedett, míg a fehérje szintje csökkent a regeneráció során (73. oldal). Ezt a látszólagos ellentmondást a szerző azzal magyarázta, hogy a myostatin tárolódhat inaktív, vagy más fehérjékhez kötött formában is. Van arra módszer, hogy ezt a feltevést alátámassza? Meg lehet mérni a teljes myostatin szintet, beleértve a kötött és inaktív fehérjéket is?
7. Az izom végeinek és közepének mérésekor a szerző az izmot öt részre osztotta (38. oldal), majd a két véget külön vette, a három középső részt pedig egyben vizsgálta. Technikai oka volt annak, hogy nem három, hanem öt részre osztotta az izmot?



8. Mit jelent az, hogy "a myf-5 és az MRF4 pedig terminális eloszlást mutatott" a dolgozat 40. oldalán?

9. A myoD pozitív sejtmagok száma az öt izomblokkból származó metszeten nem mutatott különbséget (40. oldal). Az izom mentén a keresztmetszete nem állandó, és nyilván a tömeg sem egyenletesen oszlik el. Kellene ebben a mérésben normalizálni a magok számát az adott izomszakasz tömegére?

Végezetül megállapítom, hogy Dr. Zádor Ernő jelen értekezésében szisztematikusan felépített, egymásra épülő kísérletekből álló, átgondolt és alapos kísérletsorozat eredményeit mutatta be, gondosan és jó felépített módon. Tudományos munkásságát elismerem, a tézispontokban foglaltakat jelentős, új tudományos eredményeknek tekintem, és a nyilvános vita kitűzését mindezek alapján javaslom.

Nyitrai Miklós

Egyetemi tanár,

az MTA doktora

Pécs, 2016. április 21.