

**Válasz Dr. Németh Péter professzor úrnak, az orvostudományok kandidátusának
opponensi véleményére**

Nagyon köszönöm Dr. Németh Péter professzor úrnak, hogy elbírálta értekezésemet, és köszönöm a dolgozatról alkotott elismerő véleményét.

Kérdéseire a válaszaim a következők:

1. A különböző beltenyészített egértörzsekből izolált, elsősorban csontvelői eredetű mesenchymalis őssejtek (MSC-k) növekedési sebességében és differenciálódási képességében, valamint egyes sejtfelszíni markereik (beleértve a különböző adhéziós molekulákat is) kifejeződésében vannak mennyiségi különbségek, jelentős minőségi eltérés – például egyes markerek szelektív előfordulása, vagy valamilyen irányú differenciálódási képesség teljes hiánya – az eddig vizsgált törzsekben (Balb/c, C3H, C57Bl/6, DBA1, FVB, 129) nem fordul elő (Phinney et al, J Cell Biochemistry 1999; 72:570-585; Peister et al, Blood 2004; 103:1662-1668; Ooi et al, World J Stem Cells 2013; 5:34-42). Humán vonatkozásban hasonló, elsősorban mennyiségi különbségek figyelhetők meg a különböző donorokból izolált csontvelői, illetve zsírszövet eredetű MSC populációk között (Mareschi et al, J Cell Biochemistry 2006; 97:744–754; Marilena et al, Stem cells and Dev 2013; 22:3226-3235; Siegel et al, BMC Medicine 2013; 11:146, doi:10.1186/1741-7015-11-146).

A homeodomén-tartalmú transzkripciós faktorok expresszióját illetően kisebb heterogenitásra számíthatunk a különböző donorokból származó MSC populációk összehasonlításakor. Ezek a faktorok ugyanis jórészt olyan meghatározó szerepet játszanak az ontogenezis során, hogy akár egyetlen egynek a hiánya, vagy túl erős kifejeződése komoly fejlődési rendellenességet okozna. Hozzá kell tennem, hogy nem ismerek olyan munkát, amelyben kifejezetten a homodomén-tartalmú transzkripciós faktorok expressziójában kimutatható esetleges egyéni különbségeket vizsgálták volna MSC-kben. Ugyanakkor a különböző testtájokról származó MSC populációk között, hozzánk hasonlóan, más szerzők is jelentős – a sejtek eredeti anatómiai lokalizációjára jellemző – génexpressziós mintázatot mutattak ki mind egérben (Ackema and Charité, Stem Cells Dev. 2008; 17: 979-991), mind emberben (Pelekanos et al, Stem Cell Res. 2012; 8:58-73; Picchi et al, J Cell Physiology 2013; 228:879-89).

2. A kérdés nagyon izgalmas, különösen annak fényében, hogy ma már általánosan elfogadott: a különböző szervekben illetve szövetekben fellépő hasonló károsodásokra vagy fertőzésekre az immunrendszer eltérő módon – elsősorban különböző effektor

mechanizmusok alkalmazásával – reagál(hat) (Hu and Pasare1, J Leukoc Biol 2013; 94:409–421). A korábban immunológiailag privilegizáltak tartott szervekről (központi idegrendszer, szem, stb.) is kiderült, hogy fertőzés esetén igenis megindul bennük valamilyen immunválasz, legfeljebb ennek jellege más, mintha ugyanez a kórokozó valamely más szervben telepedett volna meg (a fertőzött szemben például nincs citotoxikus T-sejt válasz, de van IgA-mediált humorális immunválasz) (Shechter et al, Nature Reviews Immunology, 2013; 13:206-218). Mivel az MSC-k, illetve a belőlük kialakuló kötőszövet (stroma) alkotja – természetesen a megfelelő epithel és endotheliális sejtekkel kölcsönhatásban – az adott szervre jellemző specifikus mikrokörnyezetet, ráadásul az MSC-k gyakorlatilag a védelmi rendszer minden sejtjével (macrophagok, granulocyták, dendritikus sejtek, T- és B-lymphocyták) képesek kölcsönhatásba lépni, elképzelhetetlennek tartom, hogy ne lenne szerepük az adott szervre jellemző, akár fiziológiás, akár patológiás immunválasz szabályozásában. Ugyanakkor hozzá kell tenni, hogy erre közvetlen kísérleti bizonyíték nincs, mivel az MSC-k funkcionális szerepét *in situ* eddig csak a csontvelői stromában sikerült, és ott is csak részben, vizsgálni (Frenette et al, Annu Rev Immunol 2013; 31:285–316). A kérdésre a válasz tehát valószínűleg igen, de bizonyítékaink csak közvetettek, a különböző szervekből izolált és *in vitro* kultúrában felszaporított MSC populációk összehasonlító vizsgálatán alapulnak.

3. A galektin-1 koncentráció valóban igen eltérő lehet, nem csak a különböző szövetek között, hanem akár egy szöveten, szerven belül is. Én a kettős hatást – magas gal-1 koncentráció/apoptózis vs. alacsony koncentráció/a transzendotheliális migráció gátlása - annak alapján tudom értelmezni, hogy az apoptózis indukciójához szükséges magas gal-1 koncentráció *in vivo* valószínűleg csak közvetlen sejt-sejt kölcsönhatás(ok) során alakulhat ki, amikor a lektin lokális koncentrációja az effektor sejt felszínén eléri a kritikus értéket. Így képes elpusztítani a vele közvetlen kapcsolatba lévő célsejtet. A keringésbe csak viszonylag kevés aktív lektin kerül, a gal-1 ugyanis nem egy tipikusan szekretált molekula, ráadásul a szolubilis gal-1 nagy része a vérben pillanatszerűen kötődik a vérsejtek, elsősorban a vörösvérsejtek membránjához. Többé-kevésbé szisztémásan tehát legfeljebb az alacsony gal-1 koncentráció esetén is érvényesülő, a transzendotheliális migrációt gátló aktivitás figyelhető meg *in vivo*. Az *in vitro* kísérletekben rekombináns gal-1 segítségével természetesen könnyen elérhetjük azt a lektin koncentrációt, amelynél a gal-1 már szolubilis formában is apoptózist indukál.

4. Az MSC-k diabetes modellünkben megfigyelt kettős – endogén regenerációt kiváltó és immunszuppresszív - hatása ma már általánosan elfogadott, számos más preklinikai

állatmodellben is megfigyelhető jelenség (Prockop and Oh, J Cell Biochem, 2012; 113:1460-1469; Wang et al, Cytotherapy 2013; 15:893-904). A két hatás annyiban szétválasztható – legalábbis formálisan – hogy nem ugyanazok a faktorok játszanak kulcsszerepet bennük. A regenerációért főként az őssejtek által termelt hepatocita növekedési faktor (HGF), az agyi-eredetű növekedési faktor (BDNF), az inzulin-szerű növekedési faktor 1 (IGF-1), valamint a vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF) felelős, míg az immunszuppresszív és gyulladás gátló aktivitás inkább a sejtek nitrogén-monoxid, prosztaglandin E2 (PGE2), indolamin-2,3-dioxigenáz enzim (IDO) és transzformáló növekedési faktor (TGF- β) termelésén alapul (Paul and Anisimov, Biochimie 2013; 95:2246-2256). Természetesen ez a szétválasztás valójában erősen mesterkélt, hiszen a két folyamat szorosan kapcsolódik egymáshoz. Regenerációra mindig valamilyen sérülést követően van szükség, a sejt, illetve szövetpusztulás viszont kisebb-nagyobb gyulladás – esetleg autoimmun válasz - kialakulásával (is) jár. A regeneráció egyik előfeltétele ennek a gyulladásnak és/vagy autoimmun folyamatnak a gátlása. A másik lényeges tényező, hogy a regeneráció különböző fázisaiban eltérő „polarizáltságú” fagocitasejtek, elsősorban makrofágok közreműködésére van szükség. A korai szakaszban az elpusztult sejtek maradványainak bekebelezése, később viszont a gyulladás gátló és sejtostódást segítő aktivitás dominál (Mantovani et al, J Pathol 2013; 229:176-185). Az MSC-k pedig képesek megváltoztatni, „M1”-ből „M2” irányba tolni az érintett makrofágok polarizációját. Ezt a kérdést a disszertációban ugyan csak érintettük, az elmúlt közel két évben végzett munkánk és számos új irodalmi adat azonban egyértelműen igazolta, hogy az MSC-k képesek befolyásolni a makrofágok polarizációját is (Eggenhoffer and Hoogduijn, Transplant Res 2012; 1:12). A regeneráció, gyulladás-gátlás és immunszuppresszió tehát szorosan összefüggő folyamatok. Nem véletlen, hogy az MSC-ket elsősorban olyan betegségek kezelése során próbálják alkalmazni a klinikumban, amelyekben egyidejűleg van szükség az elpusztult sejtek, illetve szövetek pótlására, gyulladás-gátlásra, és esetleg immunszuppresszióra (pl: akut-GVHD, Crohn-betegség, rheumatoid arthritis) (Bianco et al, Nat Medicine, 2013; 19:35-42; Millard and Fisk, Bioessays 2013; 35:173-182)

Budapest, 2013.12.19.

Tisztelettel és köszönettel:

Uher Ferenc