

Szeretném megköszönni Komócsi András Professzor Úrnak doktori értekezésem pozitív bírálatát és értékes kérdéseit. Az általános értékelés kapcsán tett megjegyzéseire a következők a válaszaim:

1. Az első megjegyzés azt emeli ki, hogy a gondos megfogalmazások ellenére néhol átüt az eredeti angol nyelvű szövegek átültetésével kapcsolatos nehézség.

Köszönöm ezt a megjegyzést. Az összejtudományi terminológia egyezményes használata valóban fontos lehet a jövőben, különösen, hogy ennek a gyorsan fejlődő kutatási területnek sok új kifejezése egyelőre nem honosodott meg a magyar nyelvben.

2. A bírálat joggal tér ki arra, hogy az irodalmi hivatkozások szerzők szerinti felsorolás formátuma megnehezíti az olvasást és azok kikeresését az élettudományi dolgozatokban általánosabban használt számozott stílushoz képest.

Az irodalomjegyzéket a Harvard stílus alapján készítettem el. A számozott stílus valóban kevésbé akasztja meg az olvasást, azonban a szerzők szövegek közötti említését sok esetben fontosnak találtam - azt gondolom, hogy a szakterületen kutatók részére ez értékes plusz információt jelenthet.

3. A Bíráló szükséges érezte volna egy olyan függelék csatolását, amely a témában kevésbé járatos olvasó számára a nem kellően átlátható komplex új metodikai információkat kiegészíti és megértésüket segíti. Szintén nehezíti a metodikák befogadását, hogy a módszerek rész jórészt folyószöveg formájában kerültek bemutatásra. Egy további megoldásként azt javasolja, hogy a metodikai elveket kidogozottabban magyarázó ábrákkal egészítsük ki.

Egy rövid, csak a lényegre szorító összefoglaló az egyes metodikákról mindenképpen informatív lehet. Ezekre a dolgozatomban négy ábra jelenthet példát, de továbbiak létrehozása és a klinikai iránymutatásokhoz hasonló bemutatása mindenképpen támogatható megközelítés lehet. Az elmúlt években több ilyen metodikai cikket és könyvfejezetet is megjelentettünk, ezekből többet más magyarországi munkacsoportokkal együttműködésben. A visszajelzések alapján ezek segítséget jelenthetnek annak a széles kutatói közönségnek is, akik a terület munkájába most kapcsolódnak be. Erre már példa a Nature magazin Protocol Exchange online kezdeményezése is. Ezek az új formátumú protokollok az összejtek szigorúan szabályozott és reprodukálható klinikai alkalmazásánál és az eljárások összehasonlításánál is segítséget jelenthetnek. Az összejtes és kardiovaszkuláris metodikák közérthető formájú, például infografikai (például <https://informationisbeautiful.net/>) bemutatása szintén segíthet a kísérlettervezésben.

4. A dolgozat olvashatóságát javíthatta volna a felhasznált közlemények mellékletként való csatolása.

Köszönöm az észrevételt, azonban a kérdéses cikkeket a Doktori eljárás keretében elektronikusan, a Doktori Titkárságnak mellékletként benyújtottam. A kérdéses cikkek többsége emellett ingyenesen is hozzáférhető.

5. A bíráló megjegyzi, hogy a rövidítések feloldását több esetben a rövidítések jegyzéke nem tartalmazta.

A dolgozattól esetlegesen kimaradt rövidítés magyarázatokért elnézést kérek.

6. A bírálat következő megjegyzése szerint a dolgozat célkitűzéseit jórészt töredékes mondat formájában adja meg.

Egyetértek vele, hogy valóban célszerűbb lett volna ezt a rövid részt kiegészíteni. A címszerű felsorolása mellett az egyes célkitűzések bővebb kifejtésre is kerülnek az egyes fejezetek elején.

Válaszok a bíráló kérdéseire:

1. Bírálóm kérdése arra vonatkozott, hogy az összejtek és összejt eredetű kardiális sejtek implantációját több klinikai vizsgálatban is megkísérelték a myocardium pótlására alkalmazni, azonban az eddig lezárult vizsgálatok negatív vagy ellentmondásos eredménnyel zárultak.

Köszönöm a kérdést. Azt gondolom, hogy a humán pluripotens összejtek alkalmazása egy új biztató sejterápiás lehetőséget jelent, mivel – ahogy a dolgozatban ezt összefoglaltam – megbízhatóan és nagy mennyiségben hozhatóak létre ezekből humán differenciált vagy részben differenciált kardiovaszkuláris sejtek. Ez egy előrelépés az eddigi összejt terápiás termékekhez, így a hematopoetikus és mesenchymális összejtekhez képest, amelyeknél az érdemi kardiovaszkuláris differenciáció nem volt igazolható. A negatív vagy ellentmondásos eredmények valószínűleg ezzel hozhatóak összefüggésbe: a kamrai funkció mérsékelt javulásáért csak humorális faktorok lehettek felelősek, azonban új szívszövet vagy sejtek a károsodott helyére nem kerültek tartósan. A pluripotens sejtforrás számos előnye mellett azonban a sikeres és klinikailag hatékony transzplantáció számos további eleme is tisztázásra vár: így a hosszútávú immunszuppresszió, a beadott sejtek jobb retenciójának biztosítása a myocardiumban, a sejtek elektromechanikai kapcsolódásának optimalizálása tartoznak ide. Ez az eddig lezárult kis- és nagyállatmodellek információinak

felhasználásával ez mára elérhetőnek tűnik. Az első szívelégtelen betegek beválasztása és követése már folyamatban van, és a klinikai adatbázisokban is megfigyelhető előkészületek arra utalnak, hogy a korai klinikai vizsgálatok száma jelentősen nőni fog az elkövetkező években.

2. A bíráló jogosan jegyzi meg, hogy az egyidejű revaszkularizáció és az sejterápia kombinált megközelítése javíthatja a hatékonyságot az ischaemiás cardiomyopathiában. Kérdés ezért, hogy az összejt eredetű kardiális sejtek alkalmazása lehet-e a közeljövőben a klinikai gyógyítás része?

Köszönöm a kérdést. Az első preklinikai és klinikai vizsgálatokban a kutatók csak szívizomsejtekből álló graftokat hoztak létre, azonban elképzelhető, hogy más kardiovaszkuláris sejtek, így endothelsejtek, fibroblasztok, endo- és epikardiális sejtek és makrofágok hozzáadásával a hatékonyság tovább javítható lehet. Az első vizsgálatok azt is megmutatták, hogy pluripotens összejt-eredetű endothelsejtek hozzáadása a szívizomsejtekhez megnövelte a beültetett graftok életképességét és növelte a perfúziót is (Redd és mtsai., 2019). A dolgozatomban ugyan ez nem szerepel, de a Városmajori Klinikán jelenleg zajló munkánk is ebbe az irányba mutat. A szívizomsejtek mellett sikerült más szívszöveti sejteket is létrehozunk pluripotens összejtekből, így endothelsejteket, fibroblasztokat és simaizomsejteket. Kisállatmodellekben már igazoltuk, hogy az összejt-eredetű vaszkuláris sejtek képesek érképzésre in vivo; a létrejött erek perfúziója jól mérhető. A sejtek komplex szövetépítésre is felhasználhatóak: nagyállatmodellekben az endothelsejtekből funkcionális ereket tudtunk létrehozni és azokat implantálni. Azt gondoljuk ezért, hogy a sejtek kombinációja és 3D sejt kultúrában való tenyésztésével olyan kardiális konstruktumok hozhatóak létre, amelyek klinikai körülmények között is kipróbálhatóak lesznek. A szív kontraktilitásának és perfúziójának sejterápiával való javítása a szívelégtelenség egy új terápiás megközelítése lehet. A sejterápia pontos indikációja: mely betegségek és betegcsoportoknál lehet ez előnyös, és mennyiben összevethető ennek az eljárásnak a hatékonysága a már hozzáférhető farmakológia és közös kezelésekkel, további pontosításra szorul.

3. Opponensem utolsó kérdése arra irányult, hogy melyek kardiovaszkuláris sejterápia irányú fejlesztések fő irányvonalai?

Az első generációs sejtek, így a csontvelő eredetű sejtek, mesenchymális sejtek, harántcsíkolt izomképző sejtek klinikailag biztonságosnak bizonyultak, azonban hatékonyságukat nem sikerült igazolni. A második generációs sejterápiák a pluripotens sejtek klinikai felhasználására irányulnak. A fejlesztés központi eleme egy olyan reprodukálható, hatékony és költséghatékony sejtermelés, amelynek eredményeképpen nagyszámú szívizomsejt hozható létre. Ennek automatizált megvalósítása több nemzetközi centrumban is sikeres volt (Lipsitz és mtsai., 2016). Az állatkísérletek arra utalnak, hogy a sejtek létrehozása azonban önmagában nem elegendő a sikeres transzplantációhoz és a donor sejtek megtapadásához, ennek megoldására 3D szöveti konstruktumok alkalmazása tűnik a leghatékonyabb megoldásnak. Az első klinikai vizsgálatok ezekkel 2020 első felében várhatóak több helyen is a világban. A másik lehetséges útvonal a szív endogén regenerációs kapacitás gyógyszeres befolyásolása, így a sejthalálózás sérülést követő mérséklése, az egyébként a sejt ciklusban nem résztvevő szívizomsejtek proliferációjának növelése. Ennek során a szív endogén regenerációs kapacitását kívánjuk fokozni, akár a mérsékelt sejtproliferáció fokozásával, akár a sejthalálózás gátlásával és a mitokondriális funkció javításával. Az ún. harmadik vagy „újgenerációs” eljárások ennek befolyásolására alkalmazhatóak elsősorban, ilyenek a különböző összejt eredetű citokinek, jelátvitelt befolyásoló antitestek, növekedési faktorok, nem-kódoló RNS-ek, extracelluláris vezikulumok és direkt újraprogramozás lehetősége is.

Végezetül szeretném ismételtlen megköszönni Komócsi Professzor Úrnak az értekezésem tanulmányozására fordított idejét, értékes bírálatát, szakértő kérdéseit. Köszönöm, hogy a nyilvános védés kitűzését javasolta. Egyúttal kérem Professzor Urat válaszaim elfogadására.

Tisztelettel és köszönettel:



Dr. Földes Gábor doktorjelölt

Budapest, 2019. augusztus 23.

Hivatkozások:

1. Lipsitz YY, Timmins NE, Zandstra PW. Quality cell therapy manufacturing by design. Nat Biotechnol. 2016;34:393.
2. Redd MA, Zeinstra N, Qin W, Wei W, Martinson A, Wang Y, Wang RK, Murry CE, Zheng Y. Patterned human microvascular grafts enable rapid vascularization and increase perfusion in infarcted rat hearts Nat Commun. 2019;10: 584.