

MTA doktori értekezés bíráló

Sebestyén Anna „Jelátviteli zavaroktól az onkometabolizmusig – daganatsejtek bionergetikai alkalmazkodása” című MTA doktori értekezéséről

Dr. Sebestyén Anna MTA doktori értekezésének alapját 24 tudományos publikáció eredménye képezi, melyek közül négy elsőszerzős és 11 utolsó szerzős közlemény. Az értekezésbe foglalt tudományos művek összesített impakt faktora megközelítőleg 80 (IF:79,385). Ezekre a közleményekre összesen 305 független idézet érkezett az értekezés beadásáig. Hirsch Index: 19. Eddig 7 PhD hallgatója szerzett fokozatot.

Az értekezés terjedelme 181 oldal, 6 nagy fejezetből áll, összesen 76 összetett, részletes ábrával és 11 táblázattal illusztrálva. Nagyon gondosan szerkesztett és megírt tudományos mű.

Elütést csak ritkán találtan az értekezésben. Számomra kissé szokatlan módon a rövidítés-jegyzék a dolgozat végére került.

Az értekezés formailag teljes egészében megfelel az MTA doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeknek.

Bevezetés (47 oldal) a 467 irodalmi hivatkozásból 253 idézésével TGF β és Notch jelátviteli folyamatok daganatbiológiai szerepét ismerteti, részletesen bemutatva az mTOR jelátviteli hálózat aktivitásváltozásának jellegzetességeit, az anyagcsere változások tumor-biológiai szerepét. A vizsgálatok háttérének bemutatását a jelölt 16 igényesen szerkesztett ábrával illusztrálja.

Formai megjegyzés: az irodalmi hivatkozások 2-nél több idézése esetén az egymást követő hivatkozások számának felsorolása helyett szerencsésebb kötőjellel összekötni az egymást követő hivatkozások számát pl. 17. oldal (79,80,81,82) helyett (79-82). Az ábrákra történő hivatkozásokat nem szerencsés az ábrát magyarázó mondatokon kívülre helyezni.

A célkitűzésekben a jelölt átfogóan fogalmazza meg azokat a vizsgálatokat, melyek az immunszuppresszív kezelés indukálta apoptózis mechanizmusának felderítésére és tumorigenezis vizsgálatára irányultak lymphoma és leukémia sejtekben. Hasonló modellrendszert alkalmazott a Notch expresszió aktivitásváltozás szerepének, a TGF β indukálta apoptózis és rezisztencia háttérének tanulmányozására is.

Az mTOR aktivitás változások proliferációs és tumornövekedést segítő daganatbiológiai szerepét lymphoma típusok és leukémiák vizsgálata mellett kiterjesztette szolid daganatok tanulmányozására is. Az mTOR-hoz kapcsolódóan bioenergetikai alkalmazkodás, metabolikus plaszticitás gátlásának vizsgálata kiegészült *in vitro* rendszerek fejlesztésével és összehasonlításával, melyek 3D szövettenyésztésre és bionyomtatásra alapozva hozzájárulnak az *in situ* megfigyelések modellezéséhez.

A célkitűzéseket az **Anyag és módszer fejezet** követi, mely 17 oldal terjedelmű. A módszerek leírása pontos és részletes, jól tagolt, így könnyen követhető. Közel 50 különböző sejtvonala

fenntartása és az alkalmazott kezelések nagyszáma nem kis kihívást jelenthetett a jelöltnek. Mindezek, a 3D spheroid tenyésztés, primer sejtek izolálása és fenntartása egyértelműen azt jelzik, hogy a jelölt a sejtvonalak fenntartásában és kezelésében kiemelkedő jártassággal rendelkezik.

Az eredmények fejezetben (67 oldal) a vizsgálatok eredményeinek bemutatását és megértését 54 komplex ábra segíti. Az ábra szövegek leírása részletes, könnyen követhető. A mikroszkópos felvételek jó minőségűek. Ugyanakkor szeretném megjegyezni, hogy néhány ábra kissé zsúfolt.

A jelölt vizsgálatai az elmúlt húsz év során a TGF β összetett daganatbiológiai szerepének tisztázására irányultak. A TGF β és Notch jelátviteli útvonalak működés zavarait elemezve számos daganattípusban az mTOR aktivitásának emelkedését figyelte meg. Tanulmányozta az mTOR bioenergetikai szabályozásban betöltött szerepét.

A dolgozat témaválasztása aktuális, nagyon érdekes és fontos kutatási területet céloz meg. Az alkalmazott módszerek a molekuláris biológiai és molekuláris patológiai megközelítések legmodernebb módszerei, kiemelkedően nemzetközi színvonalúak. Külön értéke a dolgozatnak, hogy az eredmények hazai laboratóriumokban, hazai kollaboráció keretében születtek.

A dolgozatban ismertetett eredmények közül tudományos szempontból új eredményeknek az alábbiakat emelem ki:

- Elsőként igazolta és jellemezte a mevastatin myeloma sejtek proliferációját gátló és apoptózis indukáló hatásait.
- Lymphomákban *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok során kimutatta a mycophenolsav proliferáció gátló és apoptózis indukáló hatását.
- Jellemezte a rapalógok, mTOR kináz gátlók pozitív, terápiás érzékenyítő hatásait.
- Megerősítette az immunszuppresszió tumorigenikus hatását hazai vesetranszplantált betegeknél és igazolta az mTORC2 hiperaktivitás szignifikánsan magasabb mértékét poszttranszplantációs vesedaganatos betegekben.
- Jelentős, konstitutív NOTCH1 szignálaktivitást igazolt humán Hodgkin lymphomákban.
- A TGF β indukált apoptózis mechanizmusában elsőként igazolta az alternatív, Smad független jelátviteli útvonal, azon belül a PP2A aktiváció és ezzel összefüggésben a MAPK kináz útvonal, illetve a PI3K/Akt/mTOR útvonal gátlásának szerepét.
- Az mTOR kináz szabályozó szerepének metabolikus hatásait vizsgálva, a daganatszövetek mTOR hiperaktivitásával összefüggésben szöveti szinten olyan metabolikus jellegzetességek megjelenését igazolta, melyek a daganatsejtek túlélését, kezelésekkal szembeni rezisztenciájának kialakulását segítik.
- Igazolta különböző daganat sejtvonalakban a bioenergetikai alkalmazkodást gátló kezelések tumornövekedés gátló hatását.

- Kiemelten új eredménynek tartom, hogy élő sejtek nyomtatására alkalmas, infrastruktúrát és szövettenyésztési körülményeket hozott létre.

A bíráló közben az alábbi kérdések fogalmazódtak meg:

1. A dolgozat elméleti bevezetőjében is hangsúlyt kap és saját eredményeik is több esetben igazolták az mTOR hiperaktivitás szerepét a hagyományos kemoterápiás kezelésekkel szembeni rezisztenciában. *Az mTOR gátlókkal szembeni rezisztencia kialakulása mennyire gyakori, milyen okok (molekuláris eltérések) állhatnak ezek hátterében?*
2. A szolid daganatok közel 5%-a hordoz mTOR kináz aktiváló mutációkat. A mutációk mellett a RICTOR gén amplifikációnak és fokozott expressziójának jelentőségét is leírták, és bebizonyosodott, hogy az amplifikáció korrelál a metasztázisképzéssel és a rezisztencia kialakulással is, ennek ellenére a RICTOR amplifikáció rutinszerű meghatározása nem történik meg.

Milyen esetekben javasolható a RICTOR amplifikáció és fokozott expresszió vizsgálata? Milyen daganatokban fordul elő RICTOR amplifikáció? Van-e adat arra, hogy az mTOR inhibitor kezeléseknek milyen hatása van azokra melyek RICTOR gén amplifikációt mutatnak?

3. A metabolit koncentráció vizsgálatok egyik jelentősége, hogy nemcsak a sejtekben, hanem a sejtek felülúszójában is lehet mérni ennek mértékét, ami alapján feltételezhető, hogy a betegek egyéb testfolyadékaiban (pl. szérumban) is megjelenhetnek ezek a metabolit koncentráció változások (onkometabolitok).

Elképzelése szerint milyen klinikai mintákban lehetséges a metabolitok változásának meghatározása és milyen feltételeknek kell teljesülni? Adott kezelések során várható-e az onkometabolitok mellett, más metabolitok mennyiségi változása?

Léteznek olyan vizsgálatok, melyek során egyéni (pl. a betegek állapotát jellemző) metabolikus jellegzetességeket határoznak meg metabolit vagy metabolomikai vizsgálatokkal?

4. *A tumor mikro környezetében az mTOR gátlók immunsejteket érintő hatásai hogyan befolyásolják a tumor ellenes immunválaszt? Vannak-e adatok arról, hogy melyik a jelentősebb az mTOR gátlók daganatsejteket és metabolizmusukat érintő hatásai vagy az immunsejteket, tumor ellenes immunsejteket érintő hatásai? Ismer-e olyan vizsgálatokat ahol az mTOR gátló kezelést kombinálták immunterápiával (PD-L1 gátlással)?*
5. Eredményeik szerint a calcineurin inhibitor kezelés fokozhatja az mTOR jelút és elsősorban az mTORC2 aktivitását, sőt vese carcinoma sejtek proliferációját.
Az mTOR aktivitás különbségek jellegzetességeit más poszt-transzplantációs daganatok esetében vizsgálták-e?

Saját vizsgálataikban még nem-rapalóg immunterápiában részesültek azok a transzplantált betegek, akikben a megjelenő daganatok megoszlását és jellegzetességeit vizsgálták. ***Vannak-e már adataik az mTOR alapú immunszuppresszióban részesült betegek tumorairól? Ezek esetében milyen mTOR aktivitásra vagy milyen egyéb molekuláris vagy jelátviteli változásokra lehet számítani?***

Összefoglalva Sebestyén Anna tudományos munkájának színvonala, az értekezésbe foglalt közleményei, az eredményeinek bemutatása és diszkussziója megfelel a Magyar Tudományos Akadémia MTA doktori értekezésekkel kapcsolatos követelményeinek. Az MTA doktori értekezés nyilvános vitára való kitűzését, sikeres védelem esetén az MTA doktora cím odaítélését támogatom

Debrecen, 2021. október 26.



Dr. Balázs Margit

egyetemi tanár az MTA doktora