

Bírálat Dr. Apáti Ágota MTA doktori értekezéséről

“A nagy őssejt kaland; pluripotens őssejt vonalak létrehozásra, jellemzése és felhasználási lehetőségeik”

Az őssejtek több mint 20 éve vannak a tudomány és a népszerű tudományos ismeretterjesztés élvonalában, az irántuk mutatott lelkesedés nem szűnik. Ezért örömteli, hogy a jelen akadémiai doktori értekezés éppen ennek a témának az átfogó elemzését tűzte ki célul. Különösen nagy feladat ez, mivel az őssejtkutatás ez alatt az idő alatt rengeteg tudományos felfedezéssel gazdagodott, amelyben a Jelölt is kiemelt szerepet játszott. Mindezek mellett ez a szakterület máig nem tudta betölteni azt a nagy ígéretet, amely már a kezdetektől fogva létjogosultságát és fontosságát igazolta: a közvetlen terápiás felhasználhatóságot. Ennek a dilemmának a feloldása, azaz a jelentős volumenű és nagyon magas színvonalú tudományos eredmények és a mögöttük igencsak lemaradó klinikai felhasználás nem ennek a dolgozatnak a célja, de örömteli, hogy a Jelölt többször is foglalkozik a kérdéssel és a saját eredmények felvezetése és megbeszélése közben több alkalommal is vissza-visszatér erre a kérdésre.

A dolgozat bevezetésében alapos kitekintést kapunk az őssejt kutatás történeti folyamatáról és annak eredményeiről, amely elvezet bennünket a humán pluripotens őssejtekig. A Szerző említi hogy ez a sejtípus miért érdemel különleges figyelmet, hiszen potenciálisan korlátlan sejtforrást jelent a sejt-alapú terápiákhoz és később akár a szövet- vagy szerv pótlás alapja is lehet. Nem tér ki azonban arra, hogy ez miért nem valósult még meg. Összehasonlításképpen, ha a 70-es 80-as évek kardiovaszkuláris kutatásait tekintjük, 10 év után már az alapvető kutatási eredmények jól használható gyógyszerek formájában bevezetésre is kerültek a rutin kardiológiai gyakorlatba. Ezzel szemben 25 évvel ezelőtt már ismertük az őssejtkutatás alap építőköveit és ezek működését, illetve tudtunk laboratóriumban többféle sejtípust, sőt alapvető szövetelemeket is növesztetni őssejtekből, két és fél évtizeddel később még sincsen egyetlen rutin terápia sem, amely ezen a tudományos paradigmán alapulna. Ezt a problémát a szerző is említi, de ennek részleteit nem fejti ki, és megoldási javaslatot sem kínál. Egy ilyen átfogó témájú dolgozatban elvárható lett volna a szélesebb társadalmat leginkább érdeklő kérdést megválaszolni, vagy legalábbis indokolni hogy a tudományos közösség miért adós ezzel a terápiás megoldással még ma is. Valószínűleg a szerző saját tudományos eredményei is éppen azért kanyarodtak el a betegség modellek és a gyógyszerfejlesztéshez használható in vitro kutatási módszerek fejlesztéséhez, mert ez megfoghatóbb, könnyebben elérhető célpont volt, mint a látszólag mindig karnyújtásnyira lévő de valahogy sosem elérhető humán terápiás alkalmazás.

A bevezetőben részletesen megismerjük az őssejtek típusait, köztük a szerző által is kísérletekben használt mezenchimális őssejteket, de ezen sejtípus két alapvető és nemrégiben széles körben igazolt tulajdonságának bemutatása hiányzik. 1, A mezenchimális őssejtek egyik kiemelkedő kutatója, akit sokan ezen sejtípus atyjának is szokták nevezni, Arnold Caplan néhány évvel ezelőtt saját korábbi nézeteit felülvizsgálva ezeket a sejteket már nem tartja eredeti értelemben vett őssejteknek, hanem sokkal inkább olyan műterméknek amelyet a sejtenyésztési in vitro protokollok állítottak elő, és az élő emlős szervezetben nem ilyen formában, vagy nem érdemi mennyiségben fordulnak elő. Mindez azonban nem csökkenti ezen sejtek hasznosságát sem a kutatások, sem a terápia számára, sőt, kis átnevezéssel mint medicinális szignál sejt javasolja a jövőben használni (<https://stemcellsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/sctm.17-0051>). Az érvelés meggyőző, mivel több kutatás kimutatta hogy ezek a sejtek beültetés után a befogadó szervezetben csak kevés ideig élnek túl kellő számban és alig-alig differenciálódnak szöveti sejtekké, ezért a szövethiányok pótlására egyáltalán nem alkalmasak. Számtalan olyan kísérlet van, főleg állatokban de emberi klinikai vizsgálatokban is, ahol őssejtek beültetése érdemi klinikai

javulást váltott ki anélkül, hogy az eredeti betegséget okozó szövethiányt az őssejtekből differenciálódó új szövet pótolta volna. Ugyanezen kutatások mutatták ki azt is, hogy a frissen beültetett sejtek egy ideig citokineket és más parakrin faktorokat termelnek, amelyek a környező sejteken fejtik ki a terápiás hatást. Ezért az őssejtek ilyen szempontból sokkal inkább élő és komplex gyógyszer termelő és bevívő ágensek, semmint új szövetet létrehozni képes építőkövek. Ez a felismerés széles körben elfogadottá vált és új kísérletek is igazolták, ezért hiányolom a jelen dolgozat bevezetéséből ennek kifejtését. 2, Egy másik fontos felismerés, amely általában az őssejtekre de különösen a mezenchimális őssejtekre vonatkozik, szintén az allogén beültetési kísérletekből származik. Jól tudjuk, és a szerző tárgyalja is a bevezetőben, hogy egyik alanyból egy másikba való szerv- vagy szövetátültetés esetén az immunológiai problémákkal foglalkozni kell, konkrétan a befogadó szervezet még a legalaposabb immunológiai illesztés mellett is gyakran életfogytig immunszuppresszióra szorul. Érdekes módon, amennyiben mezenchimális őssejteket ültetünk át, immunológiai inkompatibilitás nemigen fordul elő, sőt, ezek a sejtek könnyen megtapadnak anélkül, hogy bármiféle immunszuppresszióra szükség lenne, még lokális immunválaszt sem generálnak. Ez egy nagyon előnyös tulajdonság, mivel így könnyen lehet sokak számára kompatibilis, személyre szabott és ezért igen drága megoldások nélkül is mezenchimális őssejt terápiát létrehozni. Májig nem egészen pontosan ismert azonban, hogy ez az immunvédt stáusz pontosan hogyan és miért alakult ki ezekben a sejtekben, és ennek tényét, felhasználási lehetőségeit mindenképpen fontos lett volna a dolgozatban részletesen bemutatni.

Az őssejt kutatások elsődleges és a társadalom szempontjából legfontosabb célja, azaz a közvetlen terápiás felhasználás lehetőségei a régóta beígértél sokkal korlátosabbak, ezért is fordult a szerző a gyógyszerkutatásban használt modellek felé, amely így közvetve használja az őssejt kutatás eredményeit arra hogy új klinikai megoldások váljanak elérhetővé. Ezen módszerek és a lehetőség bemutatása nagyon alapos és a laikusok számára is könnyen követhető a dolgozatban.

A célkitűzések megfogalmazása szabatos és jól bevezeti hogy a későbbiekben a kutató milyen tudományos kérdésekre keresi a választ.

A tudományos módszerek leírása a dolgozatban példaértékű. Mivel a kísérletek egy része módszertani kutatást tartalmaz, ezért várható is, hogy a tudományos értekezés módszertani fejezete kellően részletes és szakmailag pontos legyen. A jelölt ennek az elvárásnak maximálisan eleget is tesz és kitűnő ábrákkal illetve részletes leírásokkal mutatja be az alkalmazott kutatási módszereket. Külön kiemelendő, hogy a színes ábrák nagyon szépen szerkesztettek és jól követhető módon, illusztrációként és tudományos értékű kutatási eredményként is megállják a helyüket. Ritka ilyen szépen dokumentált és akár a nagyközönség számára is jól érthető sejt- illetve molekuláris szintű kutatási módszertani leírásokat látni. Hollerbach Emil apró grafikái érdekes és kedves színt kölcsönöznek az amúgy erősen szakmai szövegnek, ezért külön köszönet jár.

Az eredmények fejezetben a korábbiakban megszokott kiváló minőségben tárgyalja a szerző az egyes tudományos kísérletek eredményeit. A részletes bemutatás mellett néhány kérdés azonban nyitott maradt. Az ABC transzporterek esetén például azt találta a szerző, hogy a magas mRNS expresszió ellenére nem lát elegendően magas fehérje szintet, amelynek oka az lehet, hogy néha egy sejtben nagyon magas az ABCC1 expresszió amely eltolja az átlagot, de fehérje szinten összességében ez már nem jelentkezik mert pl. a translációs szabályozás elnyomja. Ez egy jó hipotézis, kérdés hogy a jelölt ezt pontosan hogyan is vizsgálná, milyen biológiai magyarázat lehet erre. Esetleg az is felmerülhet, hogy ez egy mérési vagy technikai hiba, amelyet szintén ki kell zárni. Ennek mi lehet a módja? Szintén ebben a fejezetben a szerző azt a következtetést vonja le, hogy az ABCG2 expresszió dinamikus egyensúlya populációs szinten előnyt jelent, mivel a sejtek

ezúton tudnak reagálni a környezet változásaira. Feltételezi, hogy az ilyen módon fenntartott heterogenitás evolúciós szempontból kedvező lehet. Mivel ezen eredményeket in vitro sejttenyészetből származó adatokból vonja le, ezért felmerül a kérdés, hogy a teljes szervezetben pontosan hogyan lehet ezt elképzelni.

A 4.3.1. fejezet végén az összefoglalásban megtudhatjuk, hogy sikerült a konfokális mikroszkópiára alkalmas fluoreszcens Ca indikátor mérést kidolgozni, amely sok más ismert Ca érzékelő festék hátrányait kiküszöböli, de a szerző adós marad azzal, hogy mindez miért fontos. Minden módszertani kísérlet és tanulmány végső indoklottsága az, hogy ennek segítségével milyen új tudományos eredményeket lehet létrehozni, illetve azok milyen új tudáshoz fognak vezetni amely a módszer révén lehetővé válik. Ennek kifejtése hasznos lett volna.

Érdekes megfigyelés, hogy az MSC kettes klón jelenléte dóziszfüggő módon elnyomja a limfociták mitogén válaszát és a következményes proliferációt. Ennek az eredménynek köze lehet ahhoz, hogy a mezenchimális őssejtek immunrendszer által ignorált sejtek, azaz különösebb immunválasz nélkül beültethetők idegen szövetbe. Kérdés, hogy ez az in vitro megfigyelés valóban hozzájárul-e az in vivo megfigyelt immun privilégizációhoz?

A jelölt jól összegzi saját kutatási eredményeit és ezek alapján az alábbi új tudományos eredmények elfogadását javaslom:

- 1, A humán pluripotens őssejt vonalak tenyésztése és jellemzése esetén a Ca indikátorok és mutáns őssejtklónok jellemzése különböző betegség modellekben.
- 2, az ABC transzporterek szerepének leírása a pluripotens állapotban lévő őssejtek funkcióiban, illetve ezek in vitro vizsgálata.
- 3, pluripotens őssejtekből származó mezenchimális őssejtek gyulladáscsökkentő hatása.
- 4, Frank Ter Haar szindróma in vitro betegség modellje pluripotens őssejtek segítségével.

Összességében megállapítható, hogy az akadémiai doktori dolgozat mind formai mind tartalmi szempontból teljesíti az elvárt követelményeket. Kiemelendő, hogy a szerző képes volt a bonyolult technikai és biológiai folyamatokat jól érthetően, laikus számára is követhetően leírni, amely ennek ellenére tudományos szempontból is teljeskörű. Ezzel megteremtette a lehetőségét annak, hogy a jelen dolgozat alapján egy részletesebb ismeretterjesztő könyv is készüljön. Mivel a szerző kitűnően ismeri saját kutatásait, és az ezek háttéréül szolgáló szakirodalmat, bizonyára a szélesebb érdeklődő közönség számára is hiteles ismeretterjesztő munkát tudna végezni. Ez talán azért is lenne időszerű mert ismereteim szerint még nem jelent meg magyar szerzőtől komoly tudományos igényű de népszerű kézikönyv, amely az őssejtkutatás eredményeit mutatná be. Sok kevésbé hiteles forrás érhető el az interneten, illetve a komoly tudományos munkák az értelmiségi olvasók számára is nehezen követhetők - ezt a hiányosságot kitűnően tudná pótolni, ha a szerző az akadémiai doktori cím megvédése után megosztaná tudását az érdeklődőkkel, ezzel hidat képezve az akadémiai és a tágabban értelmezett magyar populáció között.

Kelt: 2024. Január 29-n



Prof. Dr. Lacza Zsombor
az MTA doktora