

Prof. Dr. Kónya József bírálataira adott válaszok

Szeretném kifejezni köszönetemet dr. Kónya József Professzor Úrnak az értékes munkájáért és az átfogó észrevételekért, amelyeket nagydoktori disszertációm bírálata során tett. Építő kérdéseivel új ötleteket adott további kutatásainkhoz.

1. *Az epithel es stroma sejteket tartják az IL-17 hatás fő célpontjának. A megfigyelt mechanizmusokat, (kemokinek, fvs migráció, stb) hogyan lehetne útvonalba netán hálózatba rendezni?*

Az IL-17 útvonal egy olyan immunológiai jelátviteli útvonal, amely az IL-17 család citokinek (IL-17A-tól IL-17F-ig) által közvetített hatásokat továbbítja a sejtekbe. Ezek a citokinek elsősorban Th17 sejtekből származnak, de más sejtípusok, mint például $\gamma\delta$ T-sejtek, iNKT sejtek és neutrophil granulocyták is termelhetnek IL-17-et. Az IL-17 útvonal kulcsfontosságú a test védelmében bizonyos bakteriális, gombás és néhány vírusos fertőzéssel szemben, különösen a bőrön és a nyálkahártyákon. Az IL-17 útvonal lépéseit a következőként lehet összefoglalni:

1. Citokin termelés: Az IL-17 citokinek termelődnek válaszul egy adott immunstimulusra, például a *C. pneumoniae* fertőzésre.
2. Receptor kötődés: Az IL-17 citokinek kötődnek az IL-17 receptorokhoz (IL-17R), amelyek különböző sejtípusok felszínén, többek között epithel sejteken, fibroblastokon és macrophágokon található. Az IL-17 receptor család több altípusból áll, amelyek közül az IL-17RA és IL-17RC a legjelentősebbek az IL-17A és IL-17F által közvetített jelzésekben.
3. Jelátvitel: Az IL-17 és az IL-17 receptorok közötti kötődés aktiválja a sejten belüli jelátviteli útvonalakat, többek között az NF- κ B, a MAPK és a C/EBP útvonalakat. Ez a jelátvitel serkenti a célsejteket a gyulladásos válaszra, beleértve a pro-inflammatorikus citokinek, kemokinek, antimikrobiális peptidok és egyéb gyulladásos mediátorok termelését.
4. Gyulladásos válasz: Az IL-17 jelátvitel eredményeként kialakuló gyulladásos válasz elősegíti a neutrophil granulocyták bevándorlását a fertőzés helyére, fokozva ezzel a patogének eliminálását.
5. Túlzott aktiválódás következményei: Bár az IL-17 útvonal létfontosságú a fertőzésekkel szembeni védekezésben, a túlzott vagy krónikus aktiválódása hozzájárulhat autoimmun és gyulladásos betegségek, mint például a psoriasis, rheumatoid arthritis és asztma patogeneziséhez¹. Az IL-17 útvonal (pl. monoklonális ellenanyaggal, ixekizumab) terápiás stratégia célpontjául szolgálhat bizonyos gyulladásos és autoimmun betegségek kezelésére, ahol az IL-17 túlzott termelődése és jelátviteli aktivitása játssza a központi szerepet. Viszont a kezelés megkezdése előtt fontos bizonyos fertőzések így a *Mycobacterium tuberculosis* kizárása, mivel az IL-17 szerepe elengedhetetlen ezen kórokozó leküzdésében.

2. *A kemokin indukcióért szekrécióért melyik sejtípust lehet felelős a szervben belül?*

A tüdőben a kemokinek indukciója és szekréciója több sejtípus együttes munkájának eredménye, amelyek a gyulladásos stimulusokra, fertőzésekre vagy egyéb sérülésekre válaszolva termelődnek.

A tüdőn belül az alábbi sejttípusok játszanak kulcsszerepet a kemokinek termelésében. A légutak epithel sejtjei az első védelmi vonalat alkotják a kórokozókkal szemben, és képesek kemokineket termelni, mint például az IL-8 (CXCL8), amely vonzza a neutrophil granulocyta, vagy a CCL2, amely mononukleáris sejteket vonz. Ezek a sejtek kemokin termelésével válaszolnak a fertőzésekre és egyéb sérülésekre elősegítve a gyulladással sejtek bevándorlását a fertőzés helyére. A tüdő alveoláris és intersticiális macrophágjai is fontos szerepet játszanak a kemokinek termelésében, különösen a gyulladással és fertőzéssel állapotokban. A macrophágok olyan kemokineket szekretálhatnak, mint a CCL2, amely vonzza a monocytákat és más immunsejteket a gyulladással helyére. Ezekon kívül a tüdő dendritikus sejtek is részt vesznek a kemokinek előállításában, elősegítve az immunválasz koordinációját a T-limfociták aktiválásával. Bár a neutrophil granulocyta elsősorban a kemokinek által bevezetett sejtek, bizonyos körülmények között maguk is képesek kemokineket termelni, ezzel fokozva a gyulladással választ. A tüdő érrendszerének endothel sejtjei szintén képesek kemokineket termelni válaszul a gyulladással stimulusokra, elősegítve a leukociták migrációját az érfalból a szövetekbe. Bizonyos T-sejt alcsoportok, például a Th1 és Th2 sejtek, valamint a B-sejtek is termelhetnek kemokineket, szabályozva ezzel az immunválaszt és az immunsejtek mozgását a tüdőben. Ezek a sejttípusok együttműködve a gyulladással és immunválaszban kulcsfontosságú kemokinek termelése révén biztosítják, hogy a tüdő képes legyen hatékonyan reagálni a különböző kihívásokra ².

3. Az IL17 indukálhat-e közvetlenül a sejtben intracelluláris anti-chlamydiális mechanizmusokat.

Kísérleteink során az IL-17A neutralizálását követően csökkent az egerek tüdejében az IL-17 indukciótól függő neutrophil granulocyta beáramlás, valamint mRNS szinten az általuk termelt különböző gyulladással kemokinek mennyisége. Ennek következtében ezen egerekben nagyobb mennyiségű *C. pneumoniae*-t tudunk visszatenyészteni. Természetesen nem zárhatjuk ki, hogy a fertőzés során termelődött IL-17 aktiválja anti-chlamydiális folyamatokat. Kísérleteink során kutatócsoportunk sajnos nem vizsgálta, hogy pl. a rekombináns IL-17 befolyásolja-e a különböző anti-chlamydiális enzimek kifejeződését.

A *C. pneumoniae* mennyiségét intracellulárisan anti-chlamydiális hatású enzimek csökkenthetik. Ezen enzimek termelődése IFN- γ függők és közéjük tartozik az IDO, az iNOS valamint a különböző GTPázok. Ezen utóbbi csoportban számos enzimet még nem írtak le, ilyen például az általunk nem régen felfedezett, de még nem közölt Igga protein, amely nagy mennyiségben kifejeződik *in vivo* a *C. muridarum* fertőzött egerek tüdejében és jelentős, chlamydia ellenes hatással bír *in vitro* rendszerben vizsgálva. Az IL-17 család több tagot (IL-17A-F) foglal magában az irodalmi adatok alapján ezek közül az IL-17C-ről írtak le, hogy képes IFN- γ termelést indukálni, ami hozzájárulhatna az anti-chlamydiális hatású enzimek termeléséhez. Az egér kísérletünk során nem tudunk kimutatni IL-17C expressziót sem a fertőzött, sem pedig a fertőzetlen egerek tüdejében. Az IL-17A más jellegű kutatások szerint képes az iNOS termelés kiváltására. Seng-an Su és mtsai arról számoltak be, hogy az IL-17A által indukált cardiomyocita apoptózis az iNOS aktivációja révén valósul meg. Az exogén IL-17A-aktivált STAT3 gátolta az IL-17A által indukált iNOS kifejeződést a cardiomyocitákban. A STAT3 gátlása növelte az iNOS kifejeződést és

súlyosbította a szívizom-apoptózist *in vivo* körülmények között³. Egy másik kutatócsoport az IL-17A szerepét vizsgálta retinopathiák pathogenezisében. Eredményeik alapján az IL-17 indukálta a mikroglia aktiválódását magas iNOS kifejeződés mellett, és elősegítette a retinális érrendszeri betegségek kialakulását. Az IL-17-függő STAT3-iNOS útvonal aktiválása alapvetően szükséges volt a mikroglia aktiválódásához, amely elősegítette az endothel sejtek növekedését és fokozta az érrendszeri átteresztőképességet a leukosztázist *in vitro* és *in vivo*⁴. Ezek alapján az IL-17A képes az iNOS termelés kiváltására, mely enzim potenciálisan anti-chlamydiális hatással bír. Igietsme és mtsai azt találták, hogy a védő hatású IFN- γ -t termelő T-sejt klónok gátolják a chlamydia szaporodást a nitrogén-oxid termelés indukálásával *C. muridarum* fertőzött murin epithel sejtekben. Ez a gátlás visszafordítható volt az iNOS aktivitás gátlójaként ismert L-arginin analóg, az NG-monomethyl-L-arginin (L-NMMA) jelenlétében⁵. A chlamydia kutatók egy része szerint tehát az iNOS egy fontos anti-chlamydiális hatással bíró enzim, mely csökkenteni tudja a chlamydia mennyiségét. Mások viszont, hogy tisztázzák ennek az útvonalnak a jelentőségét, összehasonlították a *C. trachomatis* szaporodását normál (iNOS^{+/+}) egereknél és genetikailag módosított egereknél, amelyekből hiányzott az indukálható nitrogén-oxid-szintáz (iNOS) gén (iNOS^{-/-} egerek). Eredményeik alapján nem volt szignifikáns különbség az iNOS^{+/+} és iNOS^{-/-} egerekben zajló genitális chlamydia fertőzések lefolyásában, amit a genitális epithel sejtekből ürített chlamydia visszatenyészthető mennyisége alapján detektáltak⁶. Ezek alapján az iNOS anti-chlamydiális hatása még nem teljesen tisztázott. Ha a fentebb említett első három közlemény állítását figyelembe vesszük miszerint az IL-17A iNOS-t indukál és annak viszont chlamydia ellenes hatása van, akkor úgy tűnik, hogy potenciálisan az IL-17 intracelluláris anti-chlamydiális folyamatokat indukálhat.

4. Az ismételt fertőzésekben tett IL-17E jelenség kapcsolatba hozható-e humán klinikai manifesztációval?

A chlamydia reinfekciót követő magas IL-17E expresszió csoportunkat is nagyon meglepte, viszont kísérleteink során ez az eredmény csak egy véletlen mellékeredmény volt. Már akkor felmerült bennünk a *C. pneumoniae* reinfekció indukálta IL-17E és az asztma esetleges kapcsolata, de a laboratóriumunkban nem dolgoztunk asztma modellel, így nem is tudtuk és nem is szándékoztunk a jelenséget tovább vizsgálni. Az IL-17E vagy más néven IL-25, az IL-17 citokin család egyedi tagja, amely lokálisan vagy szisztémásan is elősegítheti és fokozhatja a T helper 2 típusú (Th2) válaszokat⁷. Egyre több kísérleti és klinikai tanulmányból származó bizonyíték mutat rá, hogy az IL-25 és annak megfelelő receptora, az IL-17RB/RA kifejeződése jelentősen upregulálódik az asztmás állapotokban. Megállapították továbbá, hogy az IL-25 nemcsak a tipikus eosinophil gyulladást és a légúti hiperreaktivitást (AHR) indukálja, hanem a légutak átalakulását is, amely a goblet sejtek hiperpláziájában, a subepitheliális kollagén lerakódásában és az angiogenezisben nyilvánul meg. Az IL-25 receptorhoz való kötődés után aktiválódnak a sejten belüli jelátviteli utak, amelyek az extracelluláris stimulusokat a potenciális transzkripciós faktorokhoz továbbítják, és ezáltal befolyásolják a Th2 memória sejtek proliferációját és polarizációját, valamint fokozzák a Th2 citokinek termelését több transzkripciós faktor, többek között a GATA-3, a c-MAF és a junB gének kifejeződésének upregulálásával. Egy másik tanulmány bemutatta, hogy az IL-25 fokozta az IL-4 és az IL-5 termelését vad típusú Th sejtekben,

de nem a STAT6-hiányos sejtekben, ami alátámasztja, hogy az IL-25 által közvetített Th2 sejt differenciáció nagymértékben STAT6 függő lehet⁷. Cheng és munkatársai arról számoltak be, hogy 43 tüneteket mutató, nemrég asztmával diagnosztizált beteg esetén, akiket korábban sosem kezeltek kortikoszteroidokkal, az IL-25 hozzájárulhat a felnőttek 'Th2-magas' allergiás asztma patogeneziséhez. Észrevették, hogy az asztmás alanyok egy csoportjában, akik fokozott légúti hiperreaktivitást mutattak, több eosinophil sejttel rendelkeztek a keringésben és a légutakban, magasabb szérum IgE koncentrációt, jelentős szubepitheliális megvastagodást és magasabb Th2 citokin kifejeződést mutattak, az IL-25 plazmakoncentrációja és mRNA kifejeződése is emelkedett volt, amelyet így 'IL-25-magas' asztmás alcsoportként azonosítottak. A szerzők megfigyelték továbbá, hogy e betegek alcsoportja jól reagált az inhalált kortikoszteroid (ICS) kezelésre⁸. 66 felnőtt asztmás beteg köpetsejtjeinek mRNA kifejeződésének elemzésekor Seys és mtsai felfedezték, hogy azok a betegek, akik az 'IL-5, IL-17A, IL-25-magas' profilúak voltak, rosszabb asztma kontrollt mutattak. Ez arra utal, hogy az IL-25-nek és az IL-17A-nak szinergikus vagy redundáns hatásai lehetnek az asztma endotípusainak modulálásában, amelyek rezisztensek a kortikoszteroid kezelésre⁹. Ezt alátámasztja, hogy az IL-25 légúti neutrophiát is indukált egérmódelben IL-17A-függő módon¹⁰. Ezek alapján valószínűnek tűnik, hogy az IL-25 szerepet játszik az asztma egyes alcsoportjaiban, amelyek légúti eosinophil vagy vegyes granulocytás (neutrophil és eosinophil) infiltrációt mutatnak.

Az asztma reaktíválódásában fontos szerepet tulajdonítanak a légúti pathogén baktériumoknak (*Mycoplasma pneumoniae*, *C. pneumoniae* stb.), vírusoknak, ilyen pl. az RSV (respiratory syncytial virus). Az RSV fertőzés egyik legsúlyosabb patológiai válasza a citokinek túltermelésével és a gyulladással kapcsolatos, ami nyák túltermeléshez vezet. Petersen és mtsai egy tanulmányban az IL-25 szerepét vizsgálták az RSV-vel összefüggő immunpatológia kialakulásában. Az IL-25 és annak receptora, az IL-17RB növekedett az RSV fertőzés után, és az IL-25 blokkolása neutralizáló ellenanyagokkal csökkentette az RSV-vel összefüggő patológiát, az AHR-t (légúti hiperreaktivitást) és a Th2 citokinek termelését. Az IL-17RB^{-/-} egerek megváltozott gyulladós választ mutattak az RSV fertőzés során, amit csökkent Th2 és növekedett Th17 citokinek termelése jellemez. Továbbá, az IL-17RB^{-/-} egerek jelentősen csökkent mértékű gyulladást és citokin termelést mutattak egy RSV-asztma módelben. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az IL-25 szabályozza a gyulladós választ az RSV fertőzésben, és hogy annak gátlása lehetővé teszi az RSV-vel összefüggő tüdőgyulladás súlyosságának csökkentését, beleértve a vírus által kiváltott asztma súlyosbodását is¹¹. Ha párhuzamot vonunk az RSV és a *C. pneumoniae* fertőzés között, potenciálisan a *C. pneumoniae* által indukált magas IL-17E szerepet játszhat az asztma klinikai manifesztációjában.

5. A fvs migráció a fertőzés mely szakaszaira lehet hatással?

A fehérvérsejtek magukba foglalják a granulocytákat, a monocyta/macrophág sejteket, valamint az adaptív immunitás részét képező B- és T-sejteket. A kísérleteink alapján az egerek intranasális fertőzését követően a *C. pneumoniae* a legnagyobb mennyiségben a 7. napon tenyészthető vissza az egerek tüdejéből. A baktérium ürítés általában 3 hét után megszűnik, ennek időpontja változhat az alkalmazott chlamydia törzs, illetve fertőző dózis nagyságától függően. Direkt és indirekt

eredményeink alapján a fertőzés kezdeti szakaszában nagy jelentőséggel bírnak a neutrophil granulocyták, melyek nagy mennyiségben termelnek gyulladást előidéző kemokineket, és fokozzák a gyulladást előidéző sejtek fertőzés helyszínére vándorlását. Patel és csoportja kimutatták továbbá egy másik erős kemoattraktáns, a hepxilin A3 szerepét a *C. pneumoniae* fertőzés kezdeti szakaszában¹². A saját és ez utóbbi eredmények összevágának annak a korai *C. pneumoniae* fertőzéses egérmodell kísérletnek az eredményeivel, melyben Yang és mtsai még 1993-ben arról számoltak be, hogy a fertőzés kezdeti szakaszában polymorphonucleáris sejtek vannak jelen, a későbbi szakaszban viszont mononuclearis sejtek¹³. A neutrophil granulocyták jelentőségéről számoltak be az elmúlt évben *Chlamydia psittaci* fertőzés kapcsán is. A PMN (polymorphonucleáris neutrophil granulocyták) száma jelentősen megnövekedett a *C. psittaci* fertőzés során, ami az iNOS kifejeződésének és a NO (nitrogén-oxid) termelésének növekedésével járt együtt az egerek tüdejében. A *C. psittaci* fertőzés során PMN sejtek voltak a NO fő forrásai a tüdőben, és iNOS/NO-függő módon gátolták a *C. psittaci* replikációját. A PMN sejtek eltávolítása súlyosbította a *C. psittaci* által okozott pathológiás képet és növelte a *C. psittaci* mennyiségét. *C. psittaci* fertőzés során az iNOS kifejeződésének és a NO termelésének indukálásához a PMN sejtekben az NF- κ B és a STAT1 jelátviteli utak játszottak szerepet, viszont a MAPK jelátviteli utak nem. Így eredményeik kiemelik a NO-termelő PMN védő szerepét a *C. psittaci* fertőzésben¹⁴. A *C. pneumoniae* fertőzésre a *C. trachomatis* fertőzés által indukált képpel összevetve egyedülállóan jellemző a perivascularis és peribronchialis lymphocytá besűrűsödés, amely a 11. naptól kifejezett és még a fertőzést követő 60. napon túl is jelen lehet¹³. Saját eredményeink alapján azt mondhatjuk, hogy a fertőzött egerek tüdejében már az első hét után detektálni tudtuk a *C. pneumoniae*-specifikus IgM-et, mely a 2. héten tetőzött, tehát a specifikus B sejteknek jelen kellett lenni. Hasonlóan a humorális immunitáshoz az adaptív immunitás celluláris aktivitását jelzi, hogy a fertőzött egerek lépsejtjei az *in vitro C. pneumoniae* stimulációra IFN- γ termeléssel válaszoltak már a második héttől, az IFN- γ termelő sejtek száma a fertőzést követően a kezdeti emelkedés után csökkent, de még a 18. héten is kimutathatók voltak. A *C. pneumoniae* által indukált Th1 cytokinek, különösen az IFN- γ , melyet kutatócsoportunk is kimutatott mRNS és protein szinten a fertőzött egerek tüdejéből, tovább erősíti a T sejtek szerepét a patogén felszámolásában. Rothfuchs és mtsai különböző géntípusú egérmodellben tanulmányozták a *C. pneumoniae* fertőzést. A RAG-1^(-/-) egerek, amelyek nem rendelkeznek T és B sejtekkel, valamint az IFN- γ hiányos egerek, azt mutatták, hogy az IFN- γ , amelyet nem lymphoid sejtek, például macrophágok termelnek, védelmet nyújthat a *C. pneumoniae* fertőzéssel szemben. Emellett a kutatás kimutatta, hogy az IFN- γ hiányos egerekben súlyosabb a fertőzés, ami alátámasztja az IFN- γ védő szerepét. Meglepő módon az NK sejtek, amelyeket gyakran fontos IFN- γ termelőként tartanak számon, nem bizonyultak szükségesnek az IFN- γ függő veleszületett immunvédelemhez. Ez azt sugallja, hogy más sejtípusok, mint a macrophágok, játszhatnak döntő szerepet az IFN- γ termelésében. Ami hangsúlyozza a lokálisan jelenlevő és érkező monocyták/macrophágok szerepét a védelemben. A kutatás azt is kimutatta, hogy a CD4⁺ és CD8⁺ T-sejtek adaptív transzfere növeli a *C. pneumoniae* fertőzéssel szembeni ellenállást, amely tovább erősíti az IFN- γ és a T-sejtek központi szerepét a fertőzés elleni védekezésben. Az IFN- γ termelés képességének hiánya a T-sejtekben gyengítette ezt a védelmet, ami azt sugallja, hogy a T-sejtek által termelt IFN- γ is fontos a *C. pneumoniae* elleni védelemben¹⁵. Összességében a fehérvérsejtek szerepéről azt állapíthatjuk meg, hogy a chlamydiák

eliminálásához mind a természetes mind pedig az adaptív immunitásban résztvevő sejteknek elengedhetetlen szerepe van.

6. Az atherosclerosisra, az IFN-gammára és az antigénprezentáló sejtekre vonatkozó szerteágazó eredmények egy omnipotens kórokozó képét sugallják. Ugyanakkor ezek jelenségek megfigyelések jól elhelyezhetők az inflammatio általános mechanizmusai mentén. A humán atherosclerosis lézió kialakulásában és progressziójában a lokális gyulladás meghatározó tényező, életmódfüggő és endogén faktorok (lipoproteinek, szabad hem stb) tartós lokális inflammatorikus/nekrotizáló hatása évtizedek alatt eredményez markáns érkárosodást. Ismert-e olyan chlamydiákra specifikus atherogén pathomechanizmus, amelyik nem valamelyik inflammatorikus útvonalba torkollik be?

A kardiovaszkuláris betegség fontos klinikai megnyilvánulásai közé tartoznak az akut coronária szindróma, a stroke, a veseelégtelenség és az okkluzív perifériás érbetegség. Ezeknek a kardiovaszkuláris eseményeknek a fő patológiai alapja az atherosclerosis, amely egy krónikus, az artériákat érintő gyulladásos betegség. Az atherosclerosis során az oxLDL [oxidált LDL (alacsony sűrűségű lipoprotein)] lerakódása az érfalon belüli monocyták transzmigrációját serkenti a subendotheliális rétegbe, ahol ezek a sejtek bekebelezik az oxLDL-t vagy glikozilált LDL-t a scavenger receptorokon keresztül, és aktivált habos macrophágokká (foam cells) válnak, amelyek a subendotheliális „zsíros csíkokat” (fatty streak) formálnak¹⁶. A macrophágok és a lymphocyták által közvetítette gyulladás és a simaizomsejtek illetve fibroblastok által mediált repair mechanizmusok között egy dinamikus interakció működik, melynek eredményeképpen kialakulnak a már jól ismert atherosclerotikus plakkok, melyek gyakran a gyulladás következtében instabil plakkokká válhatnak, és fatális következményeket okozhatnak. Epidemiológiai tanulmányok alapján a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásában a környezeti kockázati tényezők az esetek kb. 90%-áért tehető felelőssé¹⁷. Azonban más tényezők, a fertőző ágensek is fontosak lehetnek az atherosclerosis pathomechanizmusában, mint például a *Helicobacter pylori*, CMV és HSV, azonban a legátfogóbban tanulmányozott mikroorganizmus a *C. pneumoniae*.

Az atherosclerosis a definíció szerint egy *krónikus gyulladás*, tehát egy idő után, ha nem is a gyulladáskeltés volt az elsődleges a *C. pneumoniae* indukálta pathomechanizmus során, az indirekt utak is be fognak tagozódni a gyulladásos folyamatba. A következőkben szeretném felsorolni ezeket a nem direkt gyulladáskeltő tényezőket, amelyeket a *C. pneumoniae* befolyásolhat.

1. A *C. pneumoniae* képes fokozni a vérlemezkék aktiválódását és aggregációját, ezáltal fokozva a trombotikus események kockázatát. Kimutatták, hogy a *C. pneumoniae* általi vérlemezke aktiváció mechanizmusa különbözik a kollagén és a trombin mechanizmusától, ugyanis a fertőzés a 12-lipoxigenáz aktiválásában vesz részt, és nem pedig a COX gátlásában¹⁸.
2. A vérben mérhető akut fázis fehérjék, mint például a fibrinogén szintje fokozott kardiovaszkuláris kockázatot jelent és elősegíti a thrombosis kialakulását. Egyes tanulmányok kimutatták az összefüggést a *C. pneumoniae* szeropozitivitás és a megemelkedett fibrinogén-szint között¹⁹, bár nem figyeltek meg összefüggést a *C. pneumoniae* DNS és a fibrinogén szintek között a PBMC-k (perifériás vér mononucleáris sejtek) esetében²⁰.

3. Az endotelin-1 (ET-1) egy vazóaktív peptid, amely a G-proteinhez kapcsolt transzmembrán receptorok, az Endotelin-A receptor (ETAR) és az Endotelin-B receptor (ETBR) révén módosítja az érrendszeri funkciót. Az ET-1 tengelyének szabályozási zavara szerepet játszik az atherosclerosis kialakulásában, mivel sejtproliferációt és vazokonstriktiót idéz elő. A *C. pneumoniae* fertőzés során a vaszkuláris simaizom sejtek, amelyek fiziológias körülmények között nem termelnek jelentős mennyiségű ET-1-et, változáson esnek át és a p38-MAP-kináz-függő útvonalon keresztül emelik az ET-1 mRNS expresszióját, valamint a képződött és ET-1 mennyiségét. Kern és munkatársai a *C. pneumoniae*val fertőzött coronaria simaizom sejtekkel végzett kísérlet során a mitogén ETAR mRNS és fehérje fokozott termelődését tapasztalták, míg az ellensúlyozó ETBR, amely az ET-1 eltávolítását szabályozza, érintetlen maradt. Az ET-1 tengelyének ez a zavara megerősítést nyert egy *ex vivo* egér aortagyűrű modellen, a *C. pneumoniae* fertőzés az endothelsejtek proliferációjához vezetett, amely felfüggeszthető volt az ETAR-siRNS és a szelektív ETAR-antagonista BQ-123 alkalmazásával. A krónikus chlamydia fertőzés az érrendszer falában állandó káros ingerként lehet jelen, amely kapcsolódik az atherosclerosis korai szakaszára jellemző endothelsejt proliferációhoz²¹.
4. *C. pneumoniae* hatására a simaizom sejtek extracelluláris mátrix molekulákat termelnek, például fibrint, proteoglikánokat és kollagént, amelyek hozzájárulnak a plakk kialakulásához²².
5. Kutatók kimutatták továbbá, hogy a *C. pneumoniae* fertőzés jelentősen növelte az érfalban a simaizom sejtek (VSMC-k) számát, és a mitogén hatás összefüggésben volt az endogén HSP60 kifejeződésének szintjével. Ellentétben a VSMC-kkel, a *C. pneumoniae* fertőzés nem befolyásolta a HSP60 kifejeződési szintjét és nem serkentette a sejtproliferációt a HUVEC sejtekben. Az exogén rekombináns chlamydia HSP60 hozzáadása nem volt mitogén hatással a VSMC és a HUVEC sejtekre. Azonban az HSP60 túltermelése a VSMC sejtekben humán HSP60-t kódoló adenovírusal történő fertőzéssel, jelentős növekedést eredményezett a sejszámban. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az endogén HSP60 túltermelése lehet az a központi intracelluláris esemény, amely felelős a *C. pneumoniae* fertőzés által indukált mitogén hatásokért²³.
6. Továbbá összefüggés mutatkozott a *C. pneumoniae* fertőzés és a szérum triglicerid szint növekedése, valamint a HDL (magas sűrűségű lipoproteinek) csökkenése között. A triglicerid-szintek magasabbak, és a HDL-szintek alacsonyabbak voltak akut *C. pneumoniae* okozta pneumonia esetén, mint más baktériumok és vírusok okozta a pneumonia esetén. Egy 415 finn férfi résztvevőn végzett seroepidemiológiai tanulmány azt mutatta, hogy a szérum triglicerid magasabb volt, és az HDL-koleszterin alacsonyabb volt a krónikus *C. pneumoniae* fertőzésben szenvedő alanyoknál, mint a szeronegatív egyénekénél²⁴.
7. A *C. pneumoniae* fertőzés képes előidézni az érfal sejtjeinek, az endothel sejtek és a simaizom sejtek apoptózisát. Az endothel sejtek apoptózisa csökkentheti az érfal integritását és elősegítheti az atherosclerotikus plakk képződését azáltal, hogy növeli az érfal áteresztőképességét az atherogén lipoproteinek számára. A simaizom sejtek apoptózisa csökkentheti a plakk stabilitását, növelve a plakkruptúra kockázatát, ami szívrohamhoz vagy stroke-hoz vezethet. A *C. pneumoniae* képes apoptózist és nekrozist

indukálni az humán coronaria endothel sejtekben. Schöier és mtsai azt tapasztalták, hogy az apoptózis a fertőzés után 2 órával indukálódott és a mértéke növekedett az fertőző dózis emelésével. Az általános kaspáz inhibitor z-VAD-fmk nem befolyásolta az apoptotikus sejtek mennyiségét. A kutatók kimutatták a proapoptotikus Bax fehérje, valamint az apoptózist indukáló faktor transzlokációját a citoszolból a magba. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a *C. pneumoniae* által indukált apoptózis az emberi coronaria endothel sejtekben kaspáz-független és a Bax valamint az apoptózist indukáló faktor által szabályozott²⁵. Egy másik tanulmány kimutatta, hogy a *C. pneumoniae* dózis- és időfüggő módon növeli a LOX-1 expresszióját a HUVECs sejtekben. Ez a folyamat az ERK1/2 által közvetített, míg más jelátviteli útvonalak, mint a p38 MAPK (mitogén-aktivált fehérjeszintáz kináz) és a JNK (c-Jun N-terminális kináz) nem játszottak benne szerepet. A *C. pneumoniae* nemcsak, hogy növelte a LOX-1 expresszióját, hanem apoptózist is indukál és csökkentette a PPAR γ expresszióját a HUVEC sejtekben. Ezek a változások hozzájárulhatnak az endothel sejtek károsodásához és az atherosclerosis előrehaladásához²⁶.

8. Az HSP60 egy konzervált molekula, amely számos élőlényben, beleértve az embert is, megtalálható. A chlamydia HSP60 keresztreagálhat az emberi HSP60-nal, ami autoimmun válaszok kiváltásához vezethet. Az ilyen keresztreagáló antitestek és T-sejtek célba vehetik az érfalakat, elősegítve az atherosclerotikus léziók kialakulását és progresszióját²⁷.
9. Továbbá a chlamydia LPS és cHSP60 indukálja az LDL oxidációját az intimában így tovább hozzájárulva a habos macrophágok kialakulásához²⁸.
10. A *C. pneumoniae* fokozza a mátrix metalloproteinázok (MMP-k) enzimesalád termelését, közülük a 92 kDa gelatináz MMP-9-t gyakran termelik az atherosclerotikus plakkokban található macrophágok és simaizom sejtek, és az extracelluláris mátrix lebontásával lehetővé teszi a sejtek mozgását és az érfalak szerkezetének átalakulását az atherosclerotikus folyamatok során. A *C. pneumoniae* fertőzés során a HUVEC sejtek fokozott TLR2 és TLR4 kifejeződést mutattak, ami arra utal, hogy a sejtek aktiválódnak és immunválaszt indítanak a fertőzéssel szemben. A VEGF egy kulcsfontosságú faktor, amely elősegíti az endothel sejtek növekedését és túlélését, valamint az új érhálózat kialakulását. Paolillo és mtsai egy tanulmányban kimutatta, hogy a *C. pneumoniae* fertőzés növeli a VEGF és az MMP-9 termelődését a HUVEC sejtekben. Amikor a sejteket VEGF antitesttel előkezelték, az MMP-9 termelődés nem volt észlelhető, ami arra utal, hogy a VEGF szerepet játszik az MMP-9 aktiválásában. A TLR2 és TLR4 neutralizáló ellenanyagokkal történt előkezelés csökkentette a *C. pneumoniae* által indukált VEGF és MMP-9 termelődést, ami arra utal, hogy a TLR jelátvitel kulcsfontosságú szerepet játszik ezen faktorok termelődésének szabályozásában. A mátrix proteinek szerepe az atherosclerosisban több ponton is megmutatkozik. a.) Plakk stabilitásának csökkenése, az MMP-k, mint például az MMP-2 és az MMP-9, lebontják az érfal kollagéinjét és más ECM (extracelluláris mátrix) komponenseit, ami a plakkok strukturális integritásának gyengüléséhez vezet. Ez növeli a plakkok ruptúrájának (szakadásának) kockázatát, ami szívrohamhoz vagy stroke-hoz vezethet. b.) Sejt migráció és proliferáció: Az MMP-k aktivitása elősegítheti a vaszkuláris simaizom sejtek (VSMCs) migrációját és proliferációját az intima rétegbe, ami a plakk vastagodásához vezet. Ez a folyamat

hozzájárul az érfalak szűküléséhez és az atherosclerosis progressziójához. c.) Endothel diszfunkció: A mátrix proteinek által kiváltott ECM lebontás hozzájárulhat az endothel diszfunkcióhoz, ami az érfalak belső rétegének károsodásával jár. Az endothel diszfunkció elősegítheti az atherogén anyagok felhalmozódását és az atherosclerotikus plakkok kialakulását. d.) Autoimmun reakciók: Az ECM komponenseinek lebontása az MMP-k által felszabadított peptidek autoimmun válaszokat válthat ki. Ez tovább súlyosbíthatja az atherosclerosis kialakulását és progresszióját²⁹.

11. A *C. pneumoniae* fertőzött endothel sejtek és simaizom sejtek által termelt szöveti faktor és a PAI-1 (plazminogén aktivátor inhibitor-1) tovább növeli a thrombosis és a plakk ruptura kockázatát³⁰.

Összegzőként elmondható, hogy a fentebb említett *C. pneumoniae* által indukált mechanizmusok alapján nem gyulladásos mechanizmusok, de idővel beletorkollnak egy krónikus gyulladásos megbetegedésbe, az atherosclerosisba.

7. *A különböző obligát és fakultatív intracelluláris kórokozóknak elég hasonló sémával zajlik a kapcsolata az antigénprezentáló sejtekkel, azonosítható-e olyan mechanizmus, amelyik a chlamydiák sajátossága és egyéb intracelluláris kórokozóra általában nem jellemző?*

Az obligát és fakultatív intracelluláris kórokozók köre rendkívül széles, bele tartoznak a vírusok, az obligát intracelluláris baktériumok pl. a chlamydiák, rickettsiák, a *Coxiella burnetii*, a fakultatív intracelluláris baktériumok pl. legionellák, shigellák, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, de olyan eukariota protozoonok is közéjük tartoznak, mint pl. a leishmaniák. Az intracelluláris kórokozók a sejten belül élnek, szaporodnak, fehérjéik lebontása a proteosomában történik, majd a 8-10 aminosav hosszúságú peptidek a TAP segítségével az endoplazmás retikulumba kerülnek, majd ott az MHC I fehérjéhez kötődnek és velük jutnak ki a fertőzött sejtek felszínére, ahol a CD8⁺ sejtek számára mutatják be az antigént. Természetesen a kórokozók igyekeznek elkerülni azt, hogy a gazdaszervezet felismerje és eliminálja őket. A chlamydia fajok egyedülálló obligát intracelluláris baktériumok, melyek különleges bifázisos életciklussal rendelkeznek a fertőzött sejtben, talán ez a leglényegesebb különbség, amely megkülönbözteti a többi intracelluláris kórokozótól. A fertőző formája az elemi test, metabolikusan inaktív és szaporodásra képtelen. Az elemi test a gazdasejtben retikuláris testté fejlődik, és többszörösen osztódik a körülötte kialakult inklúzióon belül, rejtve maradva az immunrendszer elemei elől. Speciéstől függően 72-96 óra múlva a retikuláris test átalakul elemi testté mely kiszabadulva más sejteket, vagy más gazdát tud fertőzni. Morfológiailag talán a *Coxiella burnetii* hasonlít chlamydiákra kis mértékben. A *C. burnetii* egy spóraszerű kissejtes variáns formában (Small Cell Variant, SCV) fordul elő a természetben, mely rendkívül ellenálló hőre, kiszáradásra, vegyi anyagokra. Ez az alak biztosítja a hosszú távú túlélést és a patogén terjedését. A fertőzést követően a nagysejtes forma (Large Cell Variant, LCV) képes replikálódni különös módon a gazdasejt fagolizosomájában. A *C. burnetii* olyan biokémiai mechanizmusokkal rendelkezik, amelyek lehetővé teszi számára, hogy alkalmazkodjon és virulens maradjon a fagolizosoma alacsony pH-ján. Már korai tanulmányok leírták, hogy a parazita vakuolum savas (pH~4,5–5,0) és aktív lizosomális proteázokat tartalmaz, mint például a katepszin D³¹. Azonban a pontos mechanizmusok, amelyek révén a *C. burnetii* ellenáll a lizosomális proteázok és a reaktív

oxigénfajta aktivitásának, ismeretlenek. A *C. trachomatis* és más *Chlamydia* fajok a *C. burnetii*től eltérően nem kedvelik a savas pH-jú fagolizoszómát, inkább különleges molekuláris mechanizmusokat és specifikus molekulákat használnak a fagolizoszóma fúzió megakadályozására, ami lehetővé teszi számukra, hogy elkerüljék a gazdasejt által mediált pusztítást és sikeresen szaporodjanak a sejten belül. Az inklúziók megzavarják a gazdasejt vezikuláris szállítóhálózatait, hogy elkerüljék az endolizoszomális lebontó útvonalat, de elősegítik az egymással való egyesülést, a homotípusú fúziót, hogy magasabb baktérium számot tartsanak fenn. A chlamydia IncA fehérje központi szerepet játszik mindkét folyamatban, mivel részt vesz a homotípusú fúzióban és gátolja az endocitikus SNARE-közvetítette membránfúziót. Ronzone és mtsai. azt találták, hogy a SNARE-közvetítette fúzió gátlása csak akkor jön létre, ha az IncA ugyanazon a membránon van, mint az endocitikus SNARE fehérjék. Az IncA két doménnal rendelkezik, amelyek magas homológiát mutatnak a SNARE fehérjékkel. Az N-terminális SNARE-szerű domén SLD1 és a C-terminális SNARE-szerű domén SLD2 önállóan képes gátolni a késői endoszóma/lizoszóma fúziót, hogy megvédje az inklúziót a lebontástól. Azonban mindkettő szükséges a homotípusú fúzió elősegítéséhez³². A chlamydiákra jellemző továbbá, hogy az inklúzió stabilizálására képesek szfingomielint szerezni a fertőzött gazdasejtek Golgi-apparátusából. A chlamydia fajok különböző, nem redundáns útvonalakat használnak a szfingolipidek megszerzésére. Ezek közé tartoznak a vezikuláris és nem-vezikuláris szállítási útvonalak. A különböző chlamydia fajokban konzervált, a ceramid szállításban szereplő CERT, valamint az emberi SMS2 (szfingomielin szintáz) toborzása a *C. trachomatis* inklúziójához arra utal, hogy a baktérium egy új, szfingomielint termelő rekeszt hoz létre a fertőzött gazdasejtekben. A *C. trachomatis* fertőzések során a szfingomielin külön vezikulákkal szállítódik. E célból a *C. trachomatis* a sejtes GTPázokat, beleértve a RAB és ARF fehérjéket, valamint a kinázokat használja, hogy elősegítse a szfingomielin megszerzését a fragmentált Golgi mini-stakkekból és az MVB-kről (multivesicular body)³³.

Szinte az összes intracelluláris kórokozó számos molekulát, mechanizmust dolgozott ki annak érdekében, hogy valami módon elkerülje a gazda immunrendszerét beleértve a természetes immunválaszt illetve az adaptív immunválaszt pl. az MHC I és MHC II molekulák általi prezentációt. Az intracelluláris kórokozók más-más molekulákat használva, de hasonló célokat érnek el. A következőkben szeretném összegezni a chlamydiák által használt stratégiákat, fontosabb molekulákat, melyek részt vesznek az immunválasz elkerülésében.

A chlamydiák egyik jellemzője a perzisztencia, vagyis a kórokozó folyamatos túlélése stresszes körülmények között, mint például a szükséges tápanyagok hiánya és/vagy antimikrobiális/szerek jelenléte. A perzisztencia időszak alatt a kórokozó életképes marad, de nem szaporodik. Ebben a szakaszban a kórokozó nem fertőző, az immunrendszer nem érzékeli. Ez az időszak addig tart, amíg újra be nem áll a kedvezőbb környezeti viszony, amikor is a „bújócskát” követően a kórokozó újra megjelenik. A chlamydia ebben a perzisztens időszakban egy aberráns formában él túl, ez az alak segíti, hogy túlélje a kedvezőtlen körülményeket hosszú távon a gazdában. Amint a szükséges tápanyag, pl. aminosav, vagy az immunológiai gazdaválasz mediátor molekulái visszatérnek a normál pre-stressz szintekre, vagy abbamarad az antibiotikum kezelés, a perzisztens fázisra már nincs szükség³⁴. Például az immunsejtekből származó IFN- γ elősegíti a *C. trachomatis* perzisztens állapotba való belépését. Az IFN- γ indukálja az indoleamin-2,3-dioxigenáz (IDO) enzim expresszióját, ami lebontja, és így kimeríti a triptofán készletet, amely szükséges a *C. trachomatis*

növekedéséhez. Ezért a gazda IDO jelenléte aminosav hiányt, azaz stresszt okoz, ami a kórokozó halálához és eltávolításához vezethet. Ennek a specifikus stresszhelyzetnek az elkerülése érdekében a *C. trachomatis* perzisztens alakba lép, ami megakadályozza a triptofán felhasználásának szükségességét, így az immunsejtek számára észrevétlen marad. Ezzel ellentétben az IFN- γ termelődésének csökkenése és egyidejűleg a triptofán koncentrációjának növekedése elősegíti a *C. trachomatis* normál RB-EB életciklusába való visszatérését, és betegeknél relapsushoz vezethet. A *C. trachomatis* ezen kívül a triptofán szintáz (TrpBA) fehérje felszabadításával elkerüli a triptofán kimerülését. A triptofán szintáz α -alegysége az indol glicerín-3-foszfátot (IGP) indollá; míg a β -alegység az indolt triptofánná alakítja. A nemi szervekben ez a fehérje triptofán raktározást indukál, így folyamatos triptofán ellátást biztosít a baktérium metabolizmusához³⁵. Így a *C. trachomatis* még perzisztens alakban is károsíthatja a gazdaszervezetet.

Sok intracelluláris patogén, különösen a vírusok, képesek az MHC kifejeződését/felszíni bemutatását gátolni, hogy elkerüljék az adaptív immunrendszer általi felismerést. Például a humán cytomegalovírus (HCMV) képes csökkenteni mind az MHC I, mind az MHC II molekulák kifejeződését az US2 és US11 fehérjék révén, amelyek az újonnan szintetizált MHC molekulákat az endoplazmatikus retikulumból diszlokálják a citoszolba, ahol később az ubiquitinációt követően a proteaszómában lebontásra kerülnek³⁶. Ezzel szemben az HIV negatív szabályozó faktora a Nef az MHC I szállítását organellekbe irányítja a sejt felszín helyett, ami felhalmozódást okoz a sejtekben. A Nef továbbá felgyorsítja a felszíni MHC II molekulák endocitikus eltávolítását^{37,38}. Mint intracelluláris patogén, a *C. trachomatis* elkerüli az immunrendszert azáltal, hogy elrejtőzik vagy megzavarja az MHC bemutatást. 1999-ben Zhong és mtsai számoltak be arról, hogy a *C. trachomatis* gátolja az MHC II kifejeződését. Több sejt típusban (MRC-5, 2C4 és Hela) kimutatták, hogy a *C. trachomatis* fertőzés blokkolja az IFN- γ által indukálható MHC II kifejeződését. A vizsgálatok kimutatták, hogy az MHC II kifejeződését közvetett úton gátolja az upstream stimulatory factor-1 (USF-1) lebontásával. Az USF-1 egy konstitutív, mindenütt jelen lévő transzkripció faktor, amely szükséges az IFN- γ által indukált class II transzaktivátor (CIITA) kifejeződéséhez, amely mediálja az MHC II kifejeződését³⁹. Az MHC II kifejeződésének a *C. trachomatis* közvetített gátlásának leírását követően Zhong és mtsai beszámoltak arról, hogy a *C. trachomatis* CPAF-ja gátolja az MHC I kifejeződést az USF-et megcélözve⁴⁰. Az MHC I konstitutív, és IFN- γ által indukált kifejeződése gátolt a chlamydia-fertőzött sejtekben. A fertőzés során a gazdasejt citoplazmájában levő CPAF felelős az USF-1 és a regulatory factor X5 (RFX5) fehérjék lebontásáért. Az RFX5 az RFX transzkripció faktor komplex tagja, amely szükséges az MHC I nehézlánc, és a β 2-mikroglobulin gének X1 szabályozó eleméhez való kötődéshez⁴¹. Fontos, hogy a CPAF homológ a fajok között, és a *C. pneumoniae*-ből származó rekombináns CPAF-ról is kimutatták, hogy lebontja az RFX5-öt, meggátolva MHC I kifejeződését⁴². A differenciációs klaszter d fehérje (CD1d) egy MHC-szerű molekula, amely glikolipid antigéneket köt meg és mutat be a NK sejteknek⁴³. Kawana és mtsai kimutatták, hogy a *C. trachomatis* fertőzés gátolja a CD1d expressziót a férfiak húgycsővének epitheliális sejtjeiben. Ez a folyamat a CPAF által közvetített ubiquitinációt és a CD1d nehézlánc lebontását is magában foglalja. A chlamydiával fertőzött sejtekben kimutatták, hogy a CD1d nehézláncok a citoplazmába és a chlamydia inklúzióba helyeződnek át, ahelyett, hogy a sejt felszínre szállítódnának⁴⁴. A CPAF proteáz által közvetített MHC I gátláson túl, Caspar-Bauguil és mtsai. beszámoltak arról, hogy a fertőzött sejtek

által termelt IL-10 is szerepet játszhat az MHC I gátlásában⁴⁵. A humán monocyta eredetű U937 sejtek *C. pneumoniae* fertőzése gátolja az MHC I kifejeződését, és ez a folyamat megfordítható anti-IL-10 ellenanyag hozzáadásával. Továbbá, a rekombináns IL-10 önmagában is képes csökkenteni az MHC I kifejeződését ezekben a sejtekben, gátolva a bakteriális epitóp bemutatást. A chlamydiák megpróbálnak elrejtőzni a természetes immunitás elől is. A *C. trachomatis* fertőzés során az oxidatív stressz a neutrophil vagy HeLa sejtekben a NADPH oxidáz gátlása révén csökken⁴⁶. A *C. trachomatis* által használt mechanizmus a Rac1, a NADPH oxidáz szabályozó alegységének az inklúzióba történő áthelyezése csökkenti a fagocitózis hatékonyságát. A NADPH áthelyeződik a chlamydia inklúzió membránjának belső oldalára, elősegítve a baktérium glikolitikus funkcióját, negatívan befolyásolva a gazdasejt energia előállítását⁴⁷. A macrophágok *C. pneumoniae*-vel történő fertőzésekor, reaktív oxigén gyökök (ROS) keletkeznek a Ca^{2+} beáramlás és a membránhoz kapcsolódó NADPH oxidáz révén⁴⁸. Érdekes módon, a *C. pneumoniae* által kiváltott ROS szint az emberi monocytákban alacsonyabb, mint amit a *C. trachomatis* fertőzés esetében figyeltek meg. Így a *C. pneumoniae* hosszabb ideig képes túlélni az emberi monocytákban, mint a *C. trachomatis*. A *C. trachomatis* fertőzőképessége a monocytákban helyreállítható az NADPH oxidáz vagy a nitrogén-oxid szintáz inhibitor kezeléssel, ami arra utal, hogy a fagocita sejtek ROS-t és/vagy nitrogén-oxidot (NO) használnak a baktériumok eliminálására⁴⁹. A nemiszervek vagy a légutak chlamydia fertőzését a neutrophil granulocyták gyors beáramlása kíséri. A neutrophil sejtek általi elimináció magában foglalja a neutrophil sejtek fő funkcióit, azaz a fagocitózist, a defenzinek felszabadítását és a neutrophil extracelluláris csapda (NET) képződését. Zhang és mtsai *C. muridarum*-mal történt intravaginális inokulációt követően nagyszámú neutrophil sejt jelenlétét mutatták ki a petevezetékben, ami különböző állatmodellekben a hydrosalpinx gyorsabb megszűnésével társult⁵⁰. Ebben a tanulmányban a nagyobb neutrophil szám a chlamydia gyorsabb eliminálását eredményezte. Ez egybevághat azzal, hogy a neutrophil depléció monoklonális antitestek használatával körülbelül 6-szor magasabb baktérium mennyiséget eredményezett a 7. napon az intravaginális baktérium inokulációt követően a kezeletlenhez képest⁵¹. A neutrophil sejtek egyik védekezési stratégiája a NET-ek kibocsátása, amelyek hálóként működnek, csapdába ejtve és megsemmisítve a kórokozókat. A NET-ek olyan hálószerű struktúrák, amelyek DNS-t, valamint proteolitikus enzimeket tartalmaznak, és a neutrophil granulocyták által egy speciális, netóziként ismert sejthalál során bocsátanak ki. Ezek a hálók csapdába ejtik és lebontják az extracelluláris baktériumokat, segítve ezzel a fertőzések elleni harcot. Rajeeva és munkatársai szerint a *C. trachomatis* egy különleges stratégiát alkalmaz, hogy elkerülje a neutrophil sejtek védekező mechanizmusait. A baktérium a proteáz-szerű aktivitási faktort, a CPAF proteint használja, amely gátolja a NET kibocsátást, gyakorlatilag "bénítva" a gazdasejt képességét arra, hogy hatékonyan reagáljon a fertőzésre. A mechanizmus kulcsfontosságú eleme a neutrophil sejt felszíni formil peptid receptor 2 (FPR2) hasítása a CPAF által. Az FPR2 egy olyan receptor, amely fontos szerepet játszik a neutrophil sejtek aktiválásában, beleértve az oxidatív „burst” indukálását, megakadályozva a neutrophil sejtek hatékony aktiválódását és védekező választ⁵².

A *C. pneumoniae* képes megfertőzni a gazdasejtet és gátolni annak apoptózis elleni védekező funkcióját azáltal, hogy csökkenti a procaspase 3 aktivitást, egyidejűleg indukálja az IL-8-at; így fenntartja az antiapoptotikus Mcl-1 (indukált mieloid leukémia sejt differenciálódási fehérje) kifejeződését a PI3K/Akt és ERK1/2 útvonalak aktiválásán keresztül^{53,54}. Ez lehetővé teszi a

baktérium számára, hogy akár 90 órán keresztül is megmaradjon és rejtőzködjön a neutrophil granulocytában⁵⁴. Amikor a fertőzött neutrophil sejtek apoptózison mennek keresztül és végül a szomszédos macrophágok bekebelezik, a baktériumok képesek hosszabb ideig szaporodni és fennmaradni. A macrophágok fertőzése apoptotikus neutrophil sejteken keresztül TGF- β szekrécióját indukálja a direkt baktériumokkal fertőzött macrophágokban tapasztalható TGF- α -val szemben⁵⁵, elősegítve a baktériumok rejtőzködését, azaz védelmet nyújtva, amikor a hosszú életű macrophágok által bekebeleződnek. A CPAF a chlamydia által termelt fehérje, és fontos szerepet játszik abban, hogy segítse a fertőzött sejteket, hogy ellenálljanak az apoptózisnak. Ezt úgy éri el, hogy lebont néhány kulcsfontosságú fehérjét, amelyek normális esetben elősegítik a sejtek halálát, ha azok sérültek vagy fertőzöttek. Ilyen fehérjék például a BIM, a PUMA, és a BAD, amelyek mind a sejt öngyilkossági mechanizmusának részét képezik⁵⁶. Ezek a fehérjék normálisan "haláljeleket" küldenek a sejt mitokondriumainak, ami aktiválja a sejthalál folyamatát. A BIM fehérje különösen fontos ebben a folyamatban, és megfigyelték, hogy a chlamydia fertőzés során eltűnik a sejtekből⁵⁷. Ez az eltűnés megakadályozható proteaszóma inhibitorokkal, amelyek blokkolják a fehérjék lebontását a sejtekben. Ez azt sugallja, hogy a CPAF által vezérelt fehérje lebontás egy módja a chlamydiának, hogy megakadályozza a fertőzött sejtek programozott halálát, így segítve a baktériumnak, hogy életben maradjon és szaporodjon a gazdasejtben.

8. *A CXCL-9 cytokin vizsgálatokban az alkalmazott koncentráció mennyire reprezentatív az in vivo viszonyokra?*

Az *in vitro* vizsgálataink során az 5 μ g koncentrációjú MIG/CXCL9 bizonyult hatásosnak különböző chlamydia fajok ellen. Ez az *in vitro* hatásos koncentráció sokszorososa a *C. pneumoniae* fertőzött egerek tüdejében mért MIG/CXCL-9-nek. Azt gondoljuk, hogy *in vivo* körülmények között viszont a MIG/CXCL9-nek lokálisan magasabb a koncentrációja. Talán néhány kísérleti technikai adat segít ezt az eltérést megérteni. A kísérleteink során minden egér esetében eldörzsöltük az egész tüdőt, nem csak a beteg, gyulladt részt, valamint a tüdők eldörzsölését követően a homogenizátumot 1 ml tápfolyadékba vettük fel, ami tovább hígíthatta a lokálisan termelődött CXCL-9 szintjét.

9. *Ha az IFN-kezelt fertőzött sejt kultúrában nagymértékben expresszálódik, akkor a sejt kultúra felülúszójával is elérhető ugyanaz a jelenség, mint az alkalmazott CXCL-9 koncentrációval? Miután a mikrobiális célmolekuláját, egy 60 kDa-os fehérjét is meghatározták, felmerül a kérdés, hogy ezen a fehérjén keresztül közvetlenül az extracelluláris EB formával reagál a CXCL-9, vagy közvetve az intracelluláris formával?*

A kísérleteink során nem vizsgáltuk, hogy az IFN-kezelt fertőzött sejtek felülúszójának van-e anti-chlamydiális hatása, viszont azt gondolom, hogy bizonyos inkubációs időt követően a felülúszóban megfelelő koncentrációban lehet jelen a CXCL-9, és potenciálisan anti-chlamydiális hatással bírhat. Azt viszont meg kell jegyezni, hogy egy fertőzött, IFN kezelt sejt kultúra felülúszójában más mediátorok is jelen lehetnek. Az *in vitro* kísérleteink csak arról adnak információt, hogy a MIG/CXCL9 az extracelluláris, elemi testekre hat, mert a kísérleti protokollunk szerint

előinkubáltuk a MIG/CXCL9-cel a chlamydia elemi testeket. Kísérleteink nem célozták azt, hogy megvizsgáljuk vajon a MIG/CXCL9 kölcsönhatásba lép-e az intracelluláris formával.

10. A cytomegalovírus specifikus T-sejt aktivitás MHC-restrikciós jellegét leírták, de az értekezésben ennek metodológiai hátterét nem találtam. Mivel tudják igazolni, hogy a vizsgálati rendszerben jelen lévő több HLA-I lókuszt és allélt melyiken történt a felismerés? Gátlásos kísérlettel vagy ha nem azzal, akkor mivel igazolható, vagy csak jósolható melyik MHC restrikcióban zajlott a jelenség?

Az erre a kísérletre vonatkozó metodikai leírás a disszertáció 48-49. oldalán található, de lehetséges, hogy nem terjedt ki minden részletre, ezért pontosítanám. A tanulmányunkban vizsgált 34 egészséges véradó beválogatása részben a Wistar Intézetben (Philadelphia, PA), valamint az SZTE-n (egy részük lelkes munkatársak a másik részük a csontvelő donornak jelentkezők köréből került ki) történt. A tanulmányba bevont egyének CMV szerostatusát mikroneutralizációs teszttel, valamint az általunk kifejlesztett házi ELISA teszttel mértük. A donorok HLA tipizálását komplement dependens citotoxicitással vagy PCR módszerrel a Szegedi Vértranszfúziós Állomás végezte. A kísérlet szempontjából nagyon fontos tény volt, hogy ismertük a donorok HLA haplotípusát.

A restrikciós CTL vizsgálatához szükség volt target sejtekre, ezek előállítására a HLA-tipizált véradókból gradienscentrifugálással izolált lymphoid sejteket Epstein-Barr vírust-t tartalmazó B95.8 sejt felülúszójával kezeltük. A 2-3 hét alatt transzformálódott lymphoblastokat 15% FBS-t tartalmazó RPMI-ben tartottuk fenn, majd kellő számú sejtet nyerve lefagyasztottuk és -80°C -on tároltuk azokat felhasználásig.

Az effektor azaz élő sejtek előállítására a véradók vérmintáiból a PBMC-eket Ficoll gradienscentrifugálással nyertük. A tesztek során friss, illetve fagyasztott sejtekkel is dolgoztunk, miután meggyőződünk arról, hogy a sejtek citotoxikus képességét a fagyasztás nem befolyásolja. A donorokból származó sejtek egy részét különböző CMV gént expresszáló canarypox rekombinánsokkal (Alvac-pp65, Alvac-pp150, Alvac-gB, Alvac-Exon4) fertőztük külön tenyésztőedényekben, ezek a sejtek szolgálták stimulátorként, a sejtek maradék része képviselte a „responder” sejt populációt (a stimulátor responder arány 1:5 volt). A sejteket 24-lyukas tenyésztőedényben inkubáltuk IL-2 valamint IL-7 jelenlétében 8-13 napig. Mindegyik canarypox rekombinánsból a maximális sejt kultúra számot indítottuk, hogy minél több, az adott rekombinánsra (pl. pp65-re) specifikus effektor sejtet nyerjünk. Az *in vitro* stimuláció hatására proliferálni kezdtek azok a lymphocyták, amelyek olyan donoroktól származtak, akik rendelkeztek pl. pp65 specifikus memória CTL-ekkel, mert életük során fertőződtek CMV-vel. Ez a folyamat jól nyomon követhető volt mikroszkóp alatt naponkénti ellenőrzéssel. A CTL teszt napján a target sejt ként használt lymphoblastokat (donorok lymphocytájából EBV-vel előzetesen transzformálva) vaccinia rekombinánsokkal (CMV géneket hordozó Vaccinia-pp65, Vaccinia-pp150, Vaccinia-gB, Vaccinia-IE1) fertőztük (MOI:1) 16 órán át, majd megmostuk és $100\ \mu\text{Ci}\ \text{Na}^{51}\text{CrO}_4$ -tal jelöltük további 1 órán át. A jelölt sejteket a mérés előtt háromszor megmostuk. Az effektor sejteket különböző arányban összekevertük a fertőzött target sejtekkel, majd 4 óras króm felszabadulási teszt alkalmazásával mértük a citotoxikus aktivitást. A tesztek során kontrollként nemcsak HLA azonos, hanem eltérő HLA típusú, heterológ targeteket is használtunk. Tehát, pl.

egy donor pp65-specifikus effektor sejtjeit (amit az Alvac-pp65 stimulációval nyertünk) nem csak a donor saját (autológ) Vaccinia-pp65-fertőzött lymphoblastjaival hoztuk össze, hanem más, de azonos HLA alléllal is rendelkező, azaz részlegesen „mismatched”, valamint heterológ, azaz „mismatched” (azonos HLA alléllal nem rendelkező) donortól származó, Vaccinia-pp65 vírussal fertőzött lymphoblastokkal is, mint targettel (a részlegesen „mismatched” és heterológ targeteket a kísérletbe bevont donorokból válogattuk a HLA típusokat figyelembe véve). Mivel a donorok HLA haplotípusa ismert volt, valamit az *in vitro* stimuláció egy adott antigénnel történt, nem pl. CMV-vel, és maguk a targetek is egy adott antigént fejeztek ki, az MHC restriktió nemcsak jósolható, hanem adott volt.

11. *A természetes fertőzésekben felvetették a ráfertőződés (superinfectio) szerepét. A különböző vakcinatípusokban rejlő potenciál elegendő lehet-e a vakcinálást követő primer fertőzést követő életreszóló látencia megelőzéséhez?*

A CMV elleni vakcinák fejlesztése területén többféle megközelítés és típusú vakcina van klinikai vizsgálat alatt. Ezek közül néhány, a CMV fertőzés súlyosságát és a szövődmények kialakulását célozza meg, de adat a látencia elleni hatékonyságukról nem áll rendelkezésre. A 2. fázisú gB-alapú vakcina kísérletek az HCMV ellen azt mutatták, hogy bár ezek a vakcinák képesek voltak antitestek indukálására, amelyek semlegesítik a vírusnak a fibroblast sejtekbe való bejutását lehetővé tevő fúziós útvonalát, ez önmagában nem bizonyult elegendőnek a primer HCMV fertőzés elleni teljes körű védelem biztosításához⁵⁸. Ez rámutat arra, hogy szükség van további stratégiákra, amelyek kiegészítik a gB-alapú vakcinákat, és célzottan kezelik az HCMV fertőzés összetett életciklusának különböző aspektusait. Az egyik ilyen alternatív megközelítés a gH/gL/UL128/UL130/UL131 pentamer komplex (gH/gL-PC) célzása, amely egy másik mechanizmuson keresztül képes semlegesíteni a vírust, nevezetesen az endocitózis útvonalat, amelyet az HCMV az epitheliális és endotheliális sejtek fertőzésére használ. Ezek a sejtípusok kulcsfontosságúak a vírus primer nyálkahártya fertőzésében, a fertőzött gazdán belüli terjedésében és a vírus kibocsátásában, így a gH/gL-PC vakcináció célpontként való használata jelentős mértékben hozzájárulhat az HCMV életciklusának megszakításához^{59,60}. Azonban az gH/gL-PC által nyújtott védelem hatékonyságát még klinikai kísérletekben kell megerősíteni.

A hosszú közös evolúció a gazdával két figyelemre méltó tulajdonsággal ruházta fel az HCMV-t (1) az élethosszig tartó fennmaradás látenciában a gazdáiban, akik rendkívül nagy antivirális immunválaszt fejlesztenek ki ellene, és (2) a korábbi immunitással rendelkezők újrafertőzésének képessége. A HCMV rendkívül alkalmazkodó képes, és kifinomult stratégiákat fejlesztett ki, hogy képes legyen túlélni és szaporodni az immunrendszerrel rendelkező gazdáiban, még azokban is, akik korábban már kifejlesztettek szembenállást a vírussal szemben, legyen az természetes fertőzés vagy vakcinálás eredménye. Ez arra utal, hogy az HCMV-nek van egy képessége, hogy "megkerülje" vagy legyőzze a korábban kifejlesztett immunitást, ami új fertőzés elindításához vezethet. A vírus adaptációs képességének kulcsa részben abban rejlik, hogy genetikai repertoárjának jelentős részét (kb. 50%-át) olyan fehérjék alkotják, amelyek képesek befolyásolni a gazdasejt biológiai folyamatait, például a jelátvitelt, a sejtanyag-forgalmazást, a sejt aktiválását, az antigén prezentációt és az apoptózis elleni védelmet. Ezek a vírus fehérjék lehetővé teszik a HCMV számára, hogy hatékonyan elkerülje vagy gátolja a gazdasejt immunválaszt, így nehezítve

a vakcinák tervezését és kifejlesztését. Ezen komplexitást figyelembe véve kizártnak tekinthető, hogy bármely alegység tartalmú vakcinával célt tudnánk érni. Talán az antigén intracelluláris bemutatását támogató (mRNS illetve vaccinia vírus vektor) vakcinák jobb védelmet biztosíthatnak, mint a rekombináns gB alapúak, viszont a CMV biológiáját ismerve aligha érhetünk el velük is sikert.

Egy kutatócsoport egészen új dimenziókba helyezte a CMV elleni vakcina fejlesztést. A CMV egy funkcionális immunmoduláló fehérjéjének, a CMV-IL-10-nek vakcinakénti kipróbálását tűzték ki célul rhesus makákókban. Naiv állatok oltása teljesen immunoszuppresszív vIL-10-tel nagyon eltérő, és valószínűleg nem kívánatos immunválaszokat váltana ki, mint az oltás egy nem funkcionális formájú rhcmvIL-10-tel. Az rhcmvIL-10 immunogenitásának maximalizálása érdekében minimális változtatásokat hajtottak végre az rhcmvIL-10-en (2 aminosav módosítás), hogy létrehozzák egy biológiailag inaktív formáját a fehérjének, megakadályozva annak kötődését az IL-10R1-hez. A RhCMV-vel nem fertőzött makákók immunizálása egy kombinált DNS-prime/protein-boost immunizálási stratégiával stimulálta mind az rhcmvIL-10-kötő, mind az rhcmvIL-10-semlegesítő antitesteket, amelyek nem mutattak keresztreakciót a rhesus makákó celluláris, cIL-10-zel. Az oltott állatokat később a RhCMV epitheliotrop UCD59 törzsével fertőzték és molekuláris és immunológiai paraméterek alapján értékelték. Az eredmények azt mutatták, hogy az oltás egyetlen az rhcmvIL-10-vel jelentősen megváltoztatta az RhCMV challenge után a vírusparamétereket, csökkent a vírushatóanyag az inokuláció helyén, valamint a nyálban és a vizeletben. Ebből az eredményből kiindulva a makákóktól az emberre való extrapoláció alapján a cmvIL-10 elleni vakcinálás hasonló hatékonysággal kellene, hogy védelmet nyújtson a primer HCMV fertőzéssel szemben és a perzisztens fertőzés kialakulásával szemben. Ezenkívül a vakcinálás védelmet nyújthat a szerzők szerint a látencia során is, mivel tanulmányok alapján a cmvIL-10 akkor is kifejeződik⁶⁰.

12. Amennyiben klinikai kipróbálásra kerülne egy CMV vakcina, akkor milyen kimeneteli eredmények (outcome) alapján lehetne becsülni a vakcina hatékonyságát?

A HCMV vakcina klinikai kipróbálásai során a kutatók számos kimeneti eredményt értékelnek, hogy meghatározzák a vakcina hatékonyságát, de ezek a kimeneti eredmények különböznek attól függően, hogy milyen populáció alkotja a vakcináltak célcsoportját; gyerekek, fiatal nők, AIDS betegek, őssejt transzplantáltak, vese-transzplantáltak stb. Vannak fontosabb kimeneti eredmények, amelyek általában mindenféle vakcinakipróbálás esetén szerepelnek.

1. A vakcina hatékonyságát azon mérhetik, hogy mennyire csökkenti vagy akadályozza meg a résztvevők CMV-fertőzését, vagyis, hogy a vakcinált csoportban kevesebb új CMV-fertőzés fordul-e elő, mint a placeboval oltott csoportban.
2. Ha a CMV-fertőzés bekövetkezik a vakcinált csoportban, a kutatók értékelhetik, hogy a vakcina képes-e csökkenteni a betegség súlyosságát és az esetleges szövődmények kockázatát.
3. A vakcina hatékonyságát mérhetik a vírusterhelés csökkentése alapján is. Ez azt jelenti, hogy a vakcinált csoportban esetlegesen fertőzött személyeknél a vírus mennyisége kevesebb lehet, mint a placebo oltást kapott csoportban. A vírus mennyiségének mérésére többféle molekulárbiológiai módszer érhető el a kereskedelemben.

4. A vakcina hatékonyságát vizsgálhatják az immunrendszer által termelt antitestek kimutatásával (szerológiai módszerrel, pl. ELISA-val detektálják az antigén-specifikus ellenanyagszintet, mérik a képződött ellenanyagok neutralizáló kapacitását humán CMV fertőzött fibroblaston) és T-sejtek szintjén, rajtuk kifejeződött markerek detektálásával. Az eredmények azt mutathatják, hogy a vakcina kiváltja-e az immunválaszt, és milyen erős vagy tartós ez a válasz.
5. A vakcina biztonságosságát is értékelni kell. Fontos figyelembe venni a vakcina által okozott mellékhatásokat és szövődményeket a hatékonyság értékelése során.

A <https://www.clinicaltrials.gov/> honlap alapján jelenleg 61 CMV vakcina kipróbálása van folyamatban vagy záródott le. A kimeneti mutatók különbözőségét jól példázza az általam választott következő három, különböző célcsoportokra irányuló, eltérő vakcina típust felhasználó CMV megelőzésre irányuló tanulmány.

Az első tanulmányban egy CMV mRNS vakcina hatékonyságát tesztelik. (clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05575492). A tanulmány fő célja az, hogy értékelje az mRNS-1647 (pentamer: gH, gL, UL128, UL130, UL131 és gB) különböző dózisainak biztonságosságát és immunogenitását a kontrollhoz viszonyítva egészséges, CMV-szeronegatív és CMV-szeropozitív 9 és 15 év közötti női és férfi résztvevők körében. Ezen felül az mRNS-1647-t 16 és 25 év közötti női résztvevőkben is értékelik.

Ebben a tanulmányban az elsődleges kimeneti mutatók, melyek a vakcina újszerűségének köszönhetően nagyrészt a biztonságosságra vonatkoznak, a következők:

Elsődleges kimeneteli mutatók:

1. A helyi és szisztémás reaktogén mellékhatások (AR) száma
2. Nem várt események (AE) száma
3. Orvosi figyelmet igénylő események (MAAE) száma
4. Súlyos mellékhatások (SAE), különleges érdeklődésre számot tartó mellékhatások (AESI) és a tanulmányból történő kivonásra vezető AE-k száma
5. Anti-CMV neutralizáló antitestek (nAb) geometriai középértéke (GMT). A vakcina antigénjei elleni a szérumban jelenlevő funkcionális antitest szintjeit a nAb titer meghatározással mérik epithel sejt és a fibroblast fertőzés során.

Másodlagos kimeneteli mutatók:

1. A glikoprotein B (gB) specifikus IgG és a pentamer specifikus IgG kötő antitestek geometriai középértéke (GMC). A gB és pentamer fehérjékre specifikus antitest titeret ELISA módszerrel mérik.
2. A ≥ 2 -szeres, 3-szoros és 4-szeres emelkedést mutató résztvevők száma a gB és a pentamer specifikus IgG antitestek kiindulási szintjéhez képest. Ez a mérés arra vonatkozik, hogy hány résztvevőnél tapasztalható legalább kétszeres, háromszoros vagy négyszeres emelkedés az anti-gB és az anti-pentamer specifikus IgG antitestek szintjében az alapértékhez képest a vizsgált időszak alatt. A vakcina antigénjei elleni funkcionális antitest szintjeit a nAb titerrel mérik CMV-fertőzött epithel és a fibroblast sejteken.
3. A gB és a pentamer specifikus IgG antitestek geometriai középértékének emelkedése (GMFR). Az antigén-specifikus kötő antitest titeret az ELISA módszerrel mérik a gB és pentamer fehérjékre vonatkozóan.

Egy másik jelenleg is folyó HCMV elleni vakcina második fázisú, kettős vak, randomizált, placebo-kontrollált, többközpontú tanulmányban (A5355, azonosítója: [NCT05099965](https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05099965), <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05099965>), amelynek célja a MVA Vírus Vakcina (a Triplex®, egy rekombináns, módosított vaccinia Ankara (MVA) vírus, amely három immunodomináns CMV antigént kódol: pp65, IE1-exon4 és IE2-exon5) biztonságosságát és immunogenitását értékelni olyan felnőtteknél, akik HIV-pozitívak és CMV-pozitívak is egyben, a következő kimeneti eredményeket értékelik.

Elsődleges kimeneteli mutatók:

1. ≥ 3 . fokozatú mellékhatások előfordulása (48. hétig)
2. pp65-specifikus CD137⁺ CD8⁺ T-sejtek változása (12. hétig)
3. sTNFR2 változása (48. hétig)

Másodlagos kimeneteli mutatók:

1. IL-6 változása
2. sCD163 változása
3. IP-10 változása
4. sTNFR2 változása (72. hétig)
5. D-Dimer változása
6. IE1-specifikus CD137⁺ CD8⁺ T-sejtek változása
7. IE2-specifikus CD137⁺ CD8⁺ T-sejtek változása
8. pp65-specifikus CD137⁺ CD8⁺ T-sejtek változása (48. hétig)
9. IE1-specifikus CD137⁺ CD8⁺ T-sejtek változása
10. IE2-specifikus CD137⁺ CD8⁺ T-sejtek változása
11. CMV DNS a PBMC-ben
12. CMV DNS a vizeletben
13. CMV DNS a nemi váladékban
14. Vírus DNS a rekombináns MVA vakcinából
15. ≥ 3 . fokozatú mellékhatások előfordulása (96. hétig)

A harmadik, 2024 februárjában induló tanulmány célja annak értékelése, hogy a transzplantáció előtti mRNA-1647 vakcina milyen hatással van a transzplantáció utáni CMV előfordulására, a CMV-ellenes antivirális szerek használatára és a klinikai eredményekre CMV-szeropozitív és CMV-szeronegatív májátültetésre várók körében. Emellett a tanulmány célja az mRNA-1647 biztonságosságának, reaktogenitásának és immunogenitásának értékelése az összes résztvevő esetében (<https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT06133010>).

Ebben a tanulmányban a következő kimeneti mutatókkal kívánnak dolgozni.

Elsődleges kimeneteli mutatók:

1. Transzplantáció után: A klinikailag jelentős CMV-fertőzés (CS-CMV_i) első előfordulásáig eltelt idő a szeropozitív résztvevők esetében. A CS-CMV_i-t úgy definiálják, mint azt a CMV virémiát, amely kezelést tesz szükségessé (kezelést indítanak, ha a vírusterhelés ≥ 250 nemzetközi egység/milliliter és/vagy CMV-betegség esetén).
2. A vizsgálatba bevont résztvevők száma, akik helyi és szisztémás mellékhatásokat tapasztalnak.
3. Azon résztvevők száma, akik nem várt mellékhatásokat tapasztalnak.

4. Azon résztvevők száma, akik orvosi ellátást igénylő mellékhatásokat tapasztaltak a vizsgált időszak során.
5. Súlyos mellékhatást észlelő résztvevők száma.
6. Különleges érdeklődésre számot tartó mellékhatásokat (AESI) mutató résztvevők száma.
7. A tanulmányból történő kivonáshoz vezető mellékhatásokkal rendelkező résztvevők száma.

A tanulmány, mivel speciális csoportot érint, számos másodlagos kimeneteli mutatót fogalmaz meg:

1. Transzplantáció után: A klinikailag megállapított CMV-betegség első előfordulásáig eltelt idő a CMV-szeregativ résztvevők esetében, akik egy CMV-szeropozitiv donortól kaptak májat. Az úgynevezett "adjudikált CMV-betegség és/vagy fertőzés" bizonyítékai, magába foglalja a jeleket, tüneteket és a biopsziás bizonyítékokat.
2. Transzplantáció után: A CMV-szeregativ résztvevők száma, akik májat kaptak egy CMV-szeropozitiv donortól, akiknél előfordult CMV virémia.
3. Transzplantáció után: A CMV ellenes antivirális terápia időtartama.
4. Transzplantáció után: A CMV ellenes antivirális terápia megkezdéséig eltelt idő.
5. Transzplantáció után: Azoknak a résztvevőknek a száma, akiknél szükségessé vált a CMV ellenes antivirális terápia.
6. A vizsgáló által jelentett CMV-betegséggel rendelkező résztvevők száma.
7. A klinikailag megállapított CMV-betegségként definiált CMV-betegségben szenvedő szeregativ résztvevők száma.
8. Transzplantáció után: Az első CMV virémia kezdetétől eltelt idő.
9. Transzplantáció után: Az első CMV virémia időtartama.
10. Transzplantáció után: Azoknak a résztvevőknek a száma, akiknél két egymást követő detektálhatatlan CMV vírusterhelést adó vizsgálatot követően visszatérő CMV virémiát észleltek. A visszatérő CMV virémiát úgy határozzák meg, mint egy ≥ 250 IU/mL vírusterhelést a szeregativ résztvevőknel, és bármilyen észlelhető mennyiséget a szeregativ résztvevőknel, akik szeregativ szövetet kapnak.
11. Transzplantáció után: A visszatérő CMV virémia időtartama.
12. Transzplantáció után: A „csúcsvírusterhelés” a résztvevők körében, akiknél CMV virémiát észleltek.
13. Transzplantáció után: A CMV vírusterhelés időbeli változásának összessége a megfigyelt idő alatt.
14. Transzplantáció után: A neutropeniás résztvevőknek a száma.
15. Transzplantáció után: Azoknak a résztvevőknek a száma, akiknél a leukopenia két egymást követő mérés esetén jelentkezett, melyeket legalább 24 óra választott el egymástól.
16. Transzplantáció után: Azoknak a résztvevőknek a száma, akik ismételt májátültetésre szorultak.
17. Transzplantáció után: Bármely okból történő halálozás.
18. Transzplantáció: Azon résztvevők száma, akiknél a szövettani vizsgálat igazolta az allograft kilökődést.

19. Pretranszplantáció előtt: A CMV-specifikus neutralizáló antitest (nAb) titer, amit sejtalapú neutralizációs vizsgálattal mérnek.
20. Transzplantáció után: A CMV-specifikus neutralizáló antitest (nAb) titerét poszttranszplantáció során sejtalapú neutralizációs vizsgálattal mérik.
21. Transzplantáció előtt és után: Az anti-glikoprotein B (gB)-specifikus IgG és az anti-pentamer-specifikus IgG geometriai középértéke (GMT), amit ELISA segítségével mérnek.
22. Transzplantáció előtt és után: Az alapszint utáni és az alapszinten mért titerek geometriai középértékének (GMT) és a mért koncentrációk geometriai középértékének (GMC) geometriai középáránya
23. Transzplantáció előtt és után: Az alapszint utáni / alapszinten mért titerek geometriai középértéke (GMT) vagy a mért koncentrációk geometriai középértékének (GMC) geometriai átlagemelkedése (GMFR)

Irodalomjegyzék

1. Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S. Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity*. 2011;34(2):149-162. doi:10.1016/j.immuni.2011.02.012
2. Hughes CE, Nibbs RJB. A guide to chemokines and their receptors. *FEBS J*. 2018;285(16):2944-2971. doi:10.1111/febs.14466
3. Sa S, D Y, W Z, et al. Interleukin-17A mediates cardiomyocyte apoptosis through Stat3-iNOS pathway. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1863(11). doi:10.1016/j.bbamcr.2016.08.013
4. T Z, Y L, Z Y, et al. IL-17 signaling induces iNOS+ microglia activation in retinal vascular diseases. *Glia*. 2021;69(11). doi:10.1002/glia.24063
5. Igietseme JU. The molecular mechanism of T-cell control of Chlamydia in mice: role of nitric oxide. *Immunology*. 1996;87(1):1-8.
6. Igietseme JU, Perry LL, Ananaba GA, et al. Chlamydial infection in inducible nitric oxide synthase knockout mice. *Infect Immun*. 1998;66(4):1282-1286. doi:10.1128/IAI.66.4.1282-1286.1998
7. Yao X, Sun Y, Wang W, Sun Y. Interleukin (IL)-25: Pleiotropic roles in asthma. *Respirol Carlton Vic*. 2016;21(4):638-647. doi:10.1111/resp.12707
8. Cheng D, Xue Z, Yi L, et al. Epithelial interleukin-25 is a key mediator in Th2-high, corticosteroid-responsive asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190(6):639-648. doi:10.1164/rccm.201403-0505OC
9. Seys SF, Grabowski M, Adriaensen W, et al. Sputum cytokine mapping reveals an "IL-5, IL-17A, IL-25-high" pattern associated with poorly controlled asthma. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2013;43(9):1009-1017. doi:10.1111/cea.12125
10. Rickel EA, Siegel LA, Yoon BRP, et al. Identification of functional roles for both IL-17RB and IL-17RA in mediating IL-25-induced activities. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2008;181(6):4299-4310. doi:10.4049/jimmunol.181.6.4299
11. Petersen BC, Dolgachev V, Rasky A, Lukacs NW. IL-17E (IL-25) and IL-17RB promote respiratory syncytial virus-induced pulmonary disease. *J Leukoc Biol*. 2014;95(5):809-815. doi:10.1189/jlb.0913482

12. Patel KK, Webley WC. Respiratory Chlamydia Infection Induce Release of Hepoxilin A3 and Histamine Production by Airway Neutrophils. *Front Immunol*. 2018;9:2357. doi:10.3389/fimmu.2018.02357
13. Yang ZP, Kuo CC, Grayston JT. A mouse model of Chlamydia pneumoniae strain TWAR pneumonitis. *Infect Immun*. 1993;61(5):2037-2040. doi:10.1128/iai.61.5.2037-2040.1993
14. Luo Y, Wang C, Du Z, Wang C, Wu Y, Lei A. Nitric Oxide-Producing Polymorphonuclear Neutrophils Confer Protection Against Chlamydia psittaci in Mouse Lung Infection. *J Infect Dis*. 2023;228(4):453-463. doi:10.1093/infdis/jjad072
15. Rothfuchs AG, Kreuger MR, Wigzell H, Rottenberg ME. Macrophages, CD4+ or CD8+ cells are each sufficient for protection against Chlamydia pneumoniae infection through their ability to secrete IFN-gamma. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2004;172(4):2407-2415. doi:10.4049/jimmunol.172.4.2407
16. Schaffner T, Taylor K, Bartucci EJ, et al. Arterial foam cells with distinctive immunomorphologic and histochemical features of macrophages. *Am J Pathol*. 1980;100(1):57-80.
17. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet Lond Engl*. 2004;364(9438):937-952. doi:10.1016/S0140-6736(04)17018-9
18. Kälvegren H, Andersson J, Grenegård M, Bengtsson T. Platelet activation triggered by Chlamydia pneumoniae is antagonized by 12-lipoxygenase inhibitors but not cyclooxygenase inhibitors. *Eur J Pharmacol*. 2007;566(1-3):20-27. doi:10.1016/j.ejphar.2007.03.024
19. Patel P, Mendall MA, Carrington D, et al. Association of Helicobacter pylori and Chlamydia pneumoniae infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *BMJ*. 1995;311(7007):711-714. doi:10.1136/bmj.311.7007.711
20. Berger M, Schröder B, Daeschlein G, et al. Chlamydia pneumoniae DNA in non-coronary atherosclerotic plaques and circulating leukocytes. *J Lab Clin Med*. 2000;136(3):194-200. doi:10.1067/mlc.2000.108941
21. Kern JM, Maass V, Rupp J, Maass M. Proliferative stimulation of the vascular Endothelin-1 axis in vitro and ex vivo by infection with Chlamydia pneumoniae. *Thromb Haemost*. 2009;102(4):743-753. doi:10.1160/TH09-02-0128
22. Fryer RH, Schwobe EP, Woods ML, Rodgers GM. Chlamydia species infect human vascular endothelial cells and induce procoagulant activity. *J Investig Med Off Publ Am Fed Clin Res*. 1997;45(4):168-174.
23. Hirono S, Dibrov E, Hurtado C, Kostenuk A, Ducas R, Pierce GN. Chlamydia pneumoniae stimulates proliferation of vascular smooth muscle cells through induction of endogenous heat shock protein 60. *Circ Res*. 2003;93(8):710-716. doi:10.1161/01.RES.0000095720.46043.F2
24. Laurila A, Bloigu A, Näyhä S, Hassi J, Leinonen M, Saikku P. Chronic Chlamydia pneumoniae infection is associated with a serum lipid profile known to be a risk factor for atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(11):2910-2913. doi:10.1161/01.atv.17.11.2910
25. Schöier J, Högdahl M, Söderlund G, Kihlström E. Chlamydia (Chlamydophila) pneumoniae-induced cell death in human coronary artery endothelial cells is caspase-independent and accompanied by subcellular translocations of Bax and apoptosis-inducing factor. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2006;47(2):207-216. doi:10.1111/j.1574-695X.2006.00083.x

26. Sun S, Duan X, Wu Q, et al. ERK1/2-PPAR γ pathway is involved in Chlamydia pneumonia-induced human umbilical vein endothelial cell apoptosis through increased LOX-1 expression. *J Recept Signal Transduct Res.* 2020;40(2):126-132. doi:10.1080/10799893.2020.1719416
27. Wick G. Atherosclerosis--an autoimmune disease due to an immune reaction against heat-shock protein 60. *Herz.* 2000;25(2):87-90. doi:10.1007/pl00001957
28. Kalayoglu MV, Hoerneman B, LaVerda D, Morrison SG, Morrison RP, Byrne GI. Cellular oxidation of low-density lipoprotein by Chlamydia pneumoniae. *J Infect Dis.* 1999;180(3):780-790. doi:10.1086/314931
29. Paolillo R, Iovene MR, Romano Carratelli C, Rizzo A. Induction of VEGF and MMP-9 expression by toll-like receptor 2/4 in human endothelial cells infected with Chlamydia pneumoniae. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2012;25(2):377-386. doi:10.1177/039463201202500207
30. Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase expression. *Circulation.* 1998;98(4):300-307. doi:10.1161/01.cir.98.4.300
31. Heinzen RA, Scidmore MA, Rockey DD, Hackstadt T. Differential interaction with endocytic and exocytic pathways distinguish parasitophorous vacuoles of Coxiella burnetii and Chlamydia trachomatis. *Infect Immun.* 1996;64(3):796-809. doi:10.1128/iai.64.3.796-809.1996
32. Ronzone E, Paumet F. Two coiled-coil domains of Chlamydia trachomatis IncA affect membrane fusion events during infection. *PLoS One.* 2013;8(7):e69769. doi:10.1371/journal.pone.0069769
33. Banhart S, Schäfer EK, Gensch JM, Heuer D. Sphingolipid Metabolism and Transport in Chlamydia trachomatis and Chlamydia psittaci Infections. *Front Cell Dev Biol.* 2019;7:223. doi:10.3389/fcell.2019.00223
34. Stelzner K, Vollmuth N, Rudel T. Intracellular lifestyle of Chlamydia trachomatis and host-pathogen interactions. *Nat Rev Microbiol.* 2023;21(7):448-462. doi:10.1038/s41579-023-00860-y
35. Wang L, Hou Y, Yuan H, Chen H. The role of tryptophan in Chlamydia trachomatis persistence. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:931653. doi:10.3389/fcimb.2022.931653
36. van der Wal FJ, Kikkert M, Wiertz E. The HCMV gene products US2 and US11 target MHC class I molecules for degradation in the cytosol. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2002;269:37-55. doi:10.1007/978-3-642-59421-2_3
37. Chaudhry A, Verghese DA, Das SR, et al. HIV-1 Nef promotes endocytosis of cell surface MHC class II molecules via a constitutive pathway. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2009;183(4):2415-2424. doi:10.4049/jimmunol.0804014
38. Swann SA, Williams M, Story CM, Bobbitt KR, Fleis R, Collins KL. HIV-1 Nef blocks transport of MHC class I molecules to the cell surface via a PI 3-kinase-dependent pathway. *Virology.* 2001;282(2):267-277. doi:10.1006/viro.2000.0816
39. Zhong G, Fan T, Liu L. Chlamydia inhibits interferon gamma-inducible major histocompatibility complex class II expression by degradation of upstream stimulatory factor 1. *J Exp Med.* 1999;189(12):1931-1938. doi:10.1084/jem.189.12.1931
40. Zhong G, Liu L, Fan T, Fan P, Ji H. Degradation of transcription factor RFX5 during the inhibition of both constitutive and interferon gamma-inducible major histocompatibility complex class I expression in chlamydia-infected cells. *J Exp Med.* 2000;191(9):1525-1534. doi:10.1084/jem.191.9.1525

41. Gobin SJ, Peijnenburg A, van Eggermond M, van Zutphen M, van den Berg R, van den Elsen PJ. The RFX complex is crucial for the constitutive and CIITA-mediated transactivation of MHC class I and beta2-microglobulin genes. *Immunity*. 1998;9(4):531-541. doi:10.1016/s1074-7613(00)80636-6
42. Fan P, Dong F, Huang Y, Zhong G. Chlamydia pneumoniae secretion of a protease-like activity factor for degrading host cell transcription factors required for [correction of factors is required for] major histocompatibility complex antigen expression. *Infect Immun*. 2002;70(1):345-349. doi:10.1128/IAI.70.1.345-349.2002
43. Rossjohn J, Pellicci DG, Patel O, Gapin L, Godfrey DI. Recognition of CD1d-restricted antigens by natural killer T cells. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(12):845-857. doi:10.1038/nri3328
44. Kawana K, Quayle AJ, Ficarra M, et al. CD1d degradation in Chlamydia trachomatis-infected epithelial cells is the result of both cellular and chlamydial proteasomal activity. *J Biol Chem*. 2007;282(10):7368-7375. doi:10.1074/jbc.M610754200
45. Caspar-Bauguil S, Puissant B, Nazzari D, et al. Chlamydia pneumoniae induces interleukin-10 production that down-regulates major histocompatibility complex class I expression. *J Infect Dis*. 2000;182(5):1394-1401. doi:10.1086/315856
46. Tauber AI, Pavlotsky N, Lin JS, Rice PA. Inhibition of human neutrophil NADPH oxidase by Chlamydia serovars E, K, and L2. *Infect Immun*. 1989;57(4):1108-1112. doi:10.1128/iai.57.4.1108-1112.1989
47. Szaszák M, Steven P, Shima K, et al. Fluorescence lifetime imaging unravels C. trachomatis metabolism and its crosstalk with the host cell. *PLoS Pathog*. 2011;7(7):e1002108. doi:10.1371/journal.ppat.1002108
48. Azenabor AA, Yang S, Job G, Adedokun OO. Elicitation of reactive oxygen species in Chlamydia pneumoniae-stimulated macrophages: a Ca²⁺-dependent process involving simultaneous activation of NADPH oxidase and cytochrome oxidase genes. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. 2005;194(1-2):91-103. doi:10.1007/s00430-004-0223-4
49. Marangoni A, Bergamini C, Fato R, et al. Infection of human monocytes by Chlamydia pneumoniae and Chlamydia trachomatis: an in vitro comparative study. *BMC Res Notes*. 2014;7:230. doi:10.1186/1756-0500-7-230
50. Zhang H, Zhou Z, Chen J, et al. Lack of long-lasting hydrosalpinx in A/J mice correlates with rapid but transient chlamydial ascension and neutrophil recruitment in the oviduct following intravaginal inoculation with Chlamydia muridarum. *Infect Immun*. 2014;82(7):2688-2696. doi:10.1128/IAI.00055-14
51. Naglak EK, Morrison SG, Morrison RP. Neutrophils Are Central to Antibody-Mediated Protection against Genital Chlamydia. *Infect Immun*. 2017;85(10):e00409-17. doi:10.1128/IAI.00409-17
52. Rajeev K, Das S, Prusty BK, Rudel T. Chlamydia trachomatis paralyzes neutrophils to evade the host innate immune response. *Nat Microbiol*. 2018;3(7):824-835. doi:10.1038/s41564-018-0182-y
53. Sarkar A, Möller S, Bhattacharyya A, et al. Mechanisms of apoptosis inhibition in Chlamydia pneumoniae-infected neutrophils. *Int J Med Microbiol IJMM*. 2015;305(6):493-500. doi:10.1016/j.ijmm.2015.04.006
54. van Zandbergen G, Gieffers J, Kothe H, et al. Chlamydia pneumoniae multiply in neutrophil granulocytes and delay their spontaneous apoptosis. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2004;172(3):1768-1776. doi:10.4049/jimmunol.172.3.1768

55. Rupp J, Pfeleiderer L, Jugert C, et al. Chlamydia pneumoniae hides inside apoptotic neutrophils to silently infect and propagate in macrophages. *PLoS One*. 2009;4(6):e6020. doi:10.1371/journal.pone.0006020
56. Pirbhai M, Dong F, Zhong Y, Pan KZ, Zhong G. The secreted protease factor CPAF is responsible for degrading pro-apoptotic BH3-only proteins in Chlamydia trachomatis-infected cells. *J Biol Chem*. 2006;281(42):31495-31501. doi:10.1074/jbc.M602796200
57. Fischer SF, Vier J, Kirschnek S, et al. Chlamydia inhibit host cell apoptosis by degradation of proapoptotic BH3-only proteins. *J Exp Med*. 2004;200(7):905-916. doi:10.1084/jem.20040402
58. Pass RF, Zhang C, Evans A, et al. Vaccine prevention of maternal cytomegalovirus infection. *N Engl J Med*. 2009;360(12):1191-1199. doi:10.1056/NEJMoa0804749
59. Wussow F, Chiuppesi F, Martinez J, et al. Human Cytomegalovirus Vaccine Based on the Envelope gH/gL Pentamer Complex. *PLoS Pathog*. 2014;10(11):e1004524. doi:10.1371/journal.ppat.1004524
60. Barry PA. Exploiting viral natural history for vaccine development. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. 2015;204(3):255-262. doi:10.1007/s00430-015-0406-1