

Prof. Dr. Szabó Dóra kérdéseire adott válaszok

Szeretném megköszönni Dr. Szabó Dóra Professzor Asszonynak, hogy rengeteg munkája mellett időt szakított dolgozatom bírálatára. Hálásan köszönöm gondolatébresztő, újabb munkára motiváló kérdéseit.

1. Az *N-acetil-cisztein* hatását a *C. pneumoniae* szaporodására a humán gyógyászatban alkalmazott koncentrációban figyelték-e meg? Az eredmények alapján érdemes lenne ezt a megfigyelést szakmai javaslatban megfogalmazni. Történt-e az eredmények alapján ilyen jellegű lépés?

Az *N-acetyl-cystein* (NAC) hatását a humán gyógyászatban alkalmazott koncentrációban figyeltük meg egér modellben. Ezt követően felmerült egy humán kísérlet terve bennünk, mert az állatkísérlet eredményei nem elegendők arra, hogy egy esetleges ajánlást fogalmazzunk meg a szakemberek számára. A tervünket az elhúzódó COVID-19 járvány akadályozta, majd ezt követően próbáltuk felmérni a lehetőségeket egy humán tanulmány indítására. Először is összegyűjtöttük a *C. pneumoniae* diagnosztikával kapcsolatos adatokat az elmúlt 5 évről a mikrobiológiai leletek kezelésére szolgáló elektronikus MedBakter rendszerből. Az eredmények némi meglepetéssel szolgáltak, mert eltértek az irodalomban elérhető adatoktól. Továbbá az elmúlt öt évben az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben nem találtunk *C. pneumoniae* pozitív beteget PCR módszerrel vizsgálva. Ezek alapján úgy tűnt, hogy a *C. pneumoniae* mégsem fordul elő olyan gyakran, mint ahogy azt a fellelhető cikkek tárgyalják, és amelyekre jelenleg is más chlamydiával foglalkozó szakemberek hivatkoznak. A korábbi cikkek igen nagy arányban a közösségben szerzett pneumoniák mintegy 10%-ában találták kórokozónak a *C. pneumoniae*^{1,2}. A *C. pneumoniae* diagnosztika hőskorában még szerológiai módszereket alkalmaztak a klinikai diagnózis felállítására, kezdetben mikroimmunfluoreszcens tesztet, később ELISA módszert. Ezen korai módszerek specificitása, szelektivitása nem volt túl magas, az immunfluoreszcens módszer tekintetében pedig kifejezetten szubjektív is volt, gyakori a keresztreaktivitás más chlamydia fajokkal, valamint más specíesekkel, pl. bartonellákkal^{3,4}. Még nem nagyon érhetőek el azzal kapcsolatban cikkek, hogy a *C. pneumoniae* napjainkban mégsem olyan gyakori kórokozó a közösségben szerzett pneumoniákban, de 2020-ban megjelent egy cikk, melynek címe is kifejezetten erre utal, igaz a régi nomenklatúrát használva „Where is *Chlamydomphila pneumoniae* pneumonia?” Ez a saját adatokon és metaanalízisen alapuló cikk azt konkludálja, hogy a korábbi tanulmányok eltúlozhatták a kórokozó szerepét közösségben szerzett pneumoniában⁵. Saját munkájuk során (2012-2020.) multiplex PCR analízist végeztek légúti fertőzéseket okozó patogének kimutatására, különböző kiteket használva (Seeplex® PneumoBacter ACE Detection, and Anyplex™ II RB5 Detection, Seegene, Seoul, Korea). A tanulmány során értékelt 2114 légúti mintából (köpet és nasopharyngealis minta) a *C. pneumoniae* csak három mintában volt kimutatható. Ezek közül egy minta pozitív volt *Haemophilus influenzae* tenyésztéssel, egy minta rhinovírusra és egy minta humán metapneumovírusra multiplex PCR alkalmazásával. Mivel a *C. pneumoniae* más patogénekkal együtt volt kimutatható, nagyon nehéz bizonyítani, hogy ezeket a tüdőgyulladásokat a *C. pneumoniae* okozta. A metaanalízis a 17 PCR módszert (zömében multiplex PCR) alkalmazó tanulmányt alapul véve a *C. pneumoniae* pozitivitást 0-8.95%-nak találta, a kiemelkedő pozitivitást mutató tanulmány kizárásával a pozitivitás 0-1.29% között

mozgott. A szerzők összevetették a szerológián alapuló (40 db) és PCR módszer (18 db) alapján kapott *C. pneumoniae* pozitivitást. A *C. pneumoniae* azonosítási aránya közösségben szerzett pneumoniában szignifikánsan alacsonyabb volt a PCR csoportban, mint a szerológiai csoportban ($p < 0.0001$). Természetesen a PCR pozitívitas alacsony mértékét nagyban befolyásolhatta a minta milyensége, származása is⁵. A szerzők nem nagyon diszkutálták az újabban született alacsonyabb pozitívitas okait, de lehetséges, hogy a korábban használt szerológiai tesztek keresztreakáltak más ellenanyagokkal, illetve a mikroimmunfluoreszcens tesztek értékelése szubjektív volt. Napjainkban a közösségben szerzett pneumonia, különösen az atípusos pneumonia diagnosztikájában nagy szerepet játszanak a multiplex PCR kitek, ha megfelelő a mintavétel, pontosabb eredménnyel szolgálhatnak. A saját véleményem szerint nem lehet figyelmen kívül hagyni az esetleges helyi járványokat, amelyek okozhatnak időlegesen magasabb pozitívitas az adott régióban, valamint azt is fontos megjegyezni, hogy a közösségben szerzett pneumoniák terápiájában gyakran makrolideket alkalmaznak napjainkban a klinikusok, amelyre a *C. pneumoniae* érzékeny, így a gyors, és hatékony terápia megakadályozhatja a *C. pneumoniae* terjedését a közösségben. A fenti irodalmi adatokat és a saját adatainkat is látván, hacsak nem alakul ki egy lokális járvány, nem tudunk humán kísérletet indítani az N-acetyl-cystein hatásának vizsgálatára *C. pneumoniae*val fertőzött betegekben.

2. Történtek-e arra vonatkozó vizsgálatok, kísérletek, hogy az Ambroxol szerkezetét, farmakokinetikáját megváltoztatva, a hatékonyságát növelve, kisebb koncentrációban is hatékony legyen, mint potenciális Chlamydia ellenes szer?

A doktori disszertációmban nem szereplő munkánkban vizsgáltuk azt, hogy a humán ekvivalens dózisonál magasabb (4x) mennyiségben alkalmazott Ax, vajon befolyásolja-e a *C. pneumoniae* szaporodását egerekben⁶, mivel korábban azt tapasztaltuk, hogy a humán ekvivalens dózis nem mutatott anti-chlamydiális hatást⁷. Eredményeink alapján a magasabb Ax dózis anti-chlamydiális hatást mutatott immunmoduláló hatása révén egerekben. Ezen emelt dózist annak tudatában alkalmaztuk, hogy a Parkinson kór kezelésére egy 2020-as tanulmányban biztonságosan alkalmazták az Ax normál humán dózisának többszörösét (8x), és nem bizonyult toxikusnak⁸. Az Ax szerkezeti módosításával kapcsolatban nem nagyon érhetőek el adatok, különösen nem olyanok, amelyek az esetleges antimikrobiális hatás fokozására irányulnának. Egy kutatócsoport az Ax különböző N-acilezett származékainak (TEI-588a, TEI-588b, TEI-589a, TEI-589b, TEI-602a és TEI-602b) hatását vizsgálta a Cl⁻ (kloridion) szekrécióra emberi submukozális szerozus Calu-3 sejtekben, amelyek egy specifikus iontranszporter, a Na⁺/K⁺/2Cl⁻ kotranszporter-1 (NKCC1) által közvetített túlzott szekréciót mutatnak. A kutatás kiemelte, hogy bizonyos származékok (TEI-589a, TEI-589b és TEI-602a) képesek voltak csökkenteni a Cl⁻ túlzott szekrécióját azáltal, hogy mérsékeltek az NKCC1 aktivitását, anélkül, hogy blokkolták volna az apikális Cl⁻ csatornákat. Ez azt jelenti, hogy ezek a származékok közvetlenül nem akadályozták meg a kloridionok sejten belüli mozgását, hanem a sejten belüli iontranszport folyamatát szabályozták le. Érdekes módon a többi tesztelt vegyület, beleértve az eredeti Ax-t is, nem mutatott hatást a Cl⁻ szekrécióra. Az eredmények arra is rámutattak, hogy az aromás amin-acilezett származékok (pl. TEI-589a) hatékonyabban gátolták a Cl⁻ szekréciót, mint az alifás amin-acilezett származékok (pl. TEI-589b), ami azt sugallja, hogy a származékok kémiai szerkezete jelentős befolyással van a hatásmechanizmusukra.

Kiemelten, a 3-(2,5-dimethyl)furoyl csoportot tartalmazó származékok (pl. TEI-589a) erősebb gátló hatást fejtettek ki, mint a cyclopropanoyl csoportot tartalmazók. A kutatás új lehetőségeket nyit a légúti obstruktív betegségek, mint pl. a COPD kezelésében. Azáltal, hogy ezek a származékok képesek mérsékelni a túlzott Cl^- szekréciót, potenciálisan csökkenthetik a légutak ellenállását és javíthatják a légzési funkciót a túlzott nyáktermelés okozta állapotokban. Ez azt sugallja, hogy ezek a vegyületek új terápiás opciók lehetnek a légúti betegségek kezelésére, különös tekintettel azokra az esetekre, ahol a nyák és a szekréció kontrollálása kulcsfontosságú a betegség kezelésében⁹. A jövőben talán érdemes lenne kipróbálni ezen új Ax származékok antimikrobiális hatását, különösen annak a tükrében, hogy a COPD exacerbációjában rendkívül fontos szerepet játszanak a különböző kórokozók. Egy másik csoport nem szerkezeti módosítást hajtott végre az Ax-on, hanem egy új vegyületet, az egy 1,2,3,4-tetrahidrokinazolin származékot szintetizáltak az ambroxol-hidroklorid és szalicilaldehid reakciójával. A vegyület farmakológiai tulajdonságait ADMET elemzéssel értékelték, amely alapján azt találták, hogy potenciálisan áthatol az emberi vér-agy gáton, és jó gastrointestinális felszívódási képességekkel bír. A legizgalmasabb része a kutatásnak, hogy a molekuláris dokkolási és dinamikai szimulációs vizsgálatok szerint ez a vegyület aktívnak tűnik a SARS-CoV-2 több fehérjéje ellen, különösen a papain-szerű proteázzal és egy nem-strukturális fehérjével szemben. Ez utal arra, hogy a vegyület lehetséges terápiás alkalmazásokkal rendelkezhet a COVID-19 betegség esetén¹⁰. Potenciálisan meg lehetne vizsgálni antimikrobiális hatását más kórokozók esetén is.

Bár az Ax széles körben használt köptető, számos egyéb farmakológiai hatással is rendelkezik, többek között gyulladáscsökkentő és antivirális hatásokkal. Érdekes módon szinergikus hatásokat is leírtak az Ax és a kemoterápiás szerek, mint például a paklitaxel és a karboplatin között tüdőrákban. Az Ax képes volt az autofágia késői szakaszának blokkolásával autofagoszómák felhalmozódását előidézni tüdőkarcinóma sejtekben. Az autofágia gátlása erősítheti a proliferációellenes hatásokat, és hozzájárulhat a tüdőkarcinóma sejtekben a daganat regressziójához¹¹. Ezenkívül az Ax perioperatív védelmet biztosított a tüdőrák műtétek során¹². Az Ax a kereskedelemben tablettá, kapszula, szárazpor, inhalációs oldat és folyékony orális formákban kapható. Emellett számos új Ax formulát tanulmányoztak pl. egy lágy gél azonnali felszabadulású formulációt fejlesztettek ki azoknak a betegeknek, akiknek nehézséget okoz a nyelés. Fontos megemlíteni, hogy az intravénás és orális Ax formulák felhalmozódnak a tüdőben¹³. Az Ax magas eliminációs aránya az ismételt adagolás elkerülésének szükségességét vetette fel, ami a hosszú felszabadulású formulációk fejlesztését indokolta. Emellett a rendszeres mellékhatások, mint a fejfájás és az álmatlanság elkerülése alátámasztja az Ax transzdermális bevitelét. Jelenleg is folyamatban vannak kísérletek hosszú felszabadulású formulációk, tabletták és folyékony orális formák fejlesztésére. Az ozmotikus pumpa-alapú Ax tabletták, amelyek hasonló biológiai hozzáférhetőséggel rendelkeznek, mint a piacon lévő hosszú felszabadulású kapszula formulák, 12 órán keresztül képesek fenntartani a gyógyszer felszabadulását¹⁴. Az Ax hosszan tartó felszabadulása az *Abelmoschus esculentus* nyálkájából készült mikroszférák alkalmazásának köszönhető. Az Ax gastroretentív beviteli módszer képes kiküszöbölni az alacsony vízdékonysággal és az orális beadás utáni gyors metabolizmussal kapcsolatos problémákat. A savas pH-n való hosszabb ideig való megtartás növelheti az Ax oldhatóságát az Ax másodlagos aminján kialakuló pozitív töltés miatt. Ez a pH növeli az Ax gyomorban való tartózkodási idejét, ami jó felszívódási hely az Ax számára.

Md és mtsai egy speciális komplexet hoztak létre az Ax-ból és a kappa-karragénból. A létrehozott komplexet egy olyan nanoszuszpenziós formuláció fejlesztésére használták fel, amely hosszan tartó hatású, és képes leküzdeni az Ax magas metabolikus aktivitásával és rossz oldhatóságával kapcsolatos problémákat. A nanoszuszpenziót egy vízben lebegő, gél képző közegben formulálták, amely nátrium-alginátból (SA) és kitozánból (CS) áll, elősegítve ezzel a gyógyszer gyomorban való megtartását és felszívódását. A CS bevonása a polimerkeverékbe specifikus előnyökkel jár az immunológiai válaszok és a ráksejtekkel szembeni mukoadhezív tulajdonságok tekintetében, és feltételezhető, hogy kiegészíti az Ax tüdőrák ellenes hatását. Ezenkívül a kitozán fokozhatja az általános sejtközvetítette és humorális immunitást a bélből való felszívódás után. A CS-t biológiai modulátorként lehet tekinteni a rák esetében a szervezet immunitásának fokozása, a T-sejtek és az NK-sejtek és az antitesttermelés révén. A szuszpenzió lebegő gél viselkedést mutatott több mint 8 órán keresztül, ami megerősíti annak képességét, hogy a gyomorban maradjon, és ezáltal növelje az Ax felszívódását. A nanoszuszpenzió által felszabadított Ax hatékonyabban jutott el a tüdőszövetekbe, és jelentős mértékben növelte a citotoxikus hatást A549 tüdőráksejtekkel szemben, összehasonlítva a szabad Ax-al. A nanoszuszpenzió kezelés hatására jelentős változásokat figyeltek meg több biológiai markerben, mint például a mitokondriális membránpotenciál csökkenése, a kaszpáz-3, Bax és p53 szintek emelkedése, valamint a gyulladáshoz kapcsolódó markerek, mint a NF- κ B, IL-6, IL-1 β és TNF- α szintjének csökkenése. Az Ax nanoformulálása, mely jobb oldhatóságot és biológiai hozzáférhetőséget, valamint hosszabb hatásidőt biztosít, lehetővé teszi az Ax terápiás hatásának javítását a tüdőrák kezelésében¹⁵, esetleg különböző fertőzések eredetű gyulladásokban is, mint pl. a *C. pneumoniae* fertőzés is, érdemes lenne tesztelni hatását.

3. Nagyon ígéretes eredményei vannak a jelöltnek a rekombináns pGP3 és pGP4 proteinnel történő immunizálással kapcsolatban. Történtek-e human kísérletek, klinikai vizsgálatok ennek a hatékonyságának a tesztelésére embereken?

pGP3 alapú humán vakcinációs kísérletek nem folynak. Az első humán vakcinakísérletek *C. trachomatis* ellen a trachoma megelőzésére a 1960-as években történtek. Ezek a kísérletek inaktivált törzseket használtak a vakcina előállításához. Azonban ezek a korai vakcinák nem bizonyultak hatékonynak, és néhány esetben súlyosbították a fertőzés lefolyását, ami miatt a kutatók elvetették az akkori vakcinaformulákat. Ez a tény alaposan visszavetette a *C. trachomatis* vakcinák humán kipróbálását. A clinicaltrial.gov alapján mindösszesen 1 humán *C. trachomatis* vakcinával történtek kísérletek, bár a vakcinatípusok teljes palettájával folynak kísérletek a PubMed tanúsága szerint a chlamydia fertőzések megelőzésére, így mRNS, DNS, vektor, peptid és rekombináns protein alapú. Azokat az eredményeket, közleményeket szeretném említeni, amelyek vagy az általunk is használt rekombináns protein alapúak, vagy a pGP3-at tartalmazzak valamilyen formában. A fentebb említett egyetlen humán kísérletben szereplő vakcina rekombináns protein alapú, ezt a vakcinatípust használtuk mi is a chlamydia vakcinációs egérkísérleteinkben. Az CTH522 vakcinában a chlamydia rekombináns MOMP proteinje szerepel. A vakcinát kétféle adjuvánssal is kipróbálták az egyik csoport liposzómás (CTH522-CAF01) formátumban, a másik csoport viszont az általunk is alkalmazott alum adjuvánssal (CTH522-Al(OH)₃) együtt, a kontroll csoport placebo oltást kapott (fiziológiás só). A résztvevők három

intramuszkuláris oltásban részesültek (85 µg) vakcinából vagy placeboból a 0., 1. és 4. hónapban, majd ezt két intranazális adag követte 30 µg az adjuváns nélküli vakcinából vagy placeboból (egy-egy az orrlyukba) a 4,5. és 5.0. hónapban. Az elsődleges kimeneteli eredmény a biztonságosság volt, a másodlagos eredmény pedig a humorális immungenitás (anti-CTH522 IgG szerokonverzió). (clinicaltrials.gov/study/NCT02787109). Az általunk tanulmányozott pGP3 proteint cikkünk megjelenése óta más kutatócsoportok is tanulmányozták, ami arra utal, hogy potenciális vakcinajelöltként tartják számon. A rekombináns pGP3 proteinnel történt intramuszkuláris immunizálás intraoculáris antigén-specifikus ellenanyag termeléshez vezetett egérmodellben, ami arra utalhat, hogy a trachoma megelőzésére kifejlesztendő vakcinában szerepe lehet¹⁶. Egy másik csoport a pGP3 és a chlamydia macrophage infectivity potentiator (MIP) fehérjét genitális egérmodellben tesztelte vakcinaként. Eredményeik szerint bármely immunizálást, a pGP3-at önmagában, a MIP-t önmagában vagy a pGP3 és MIP-et együtt alkalmazva, specifikus szérum antitest termelést és Th1-domináns celluláris választ indukált az egerekben. A vakcina hatékonyságát tükrözi, hogy csökkent az élő chlamydia ürítése a vaginából (a challenget követően) valamint a gyulladás mértéke is szignifikánsan redukálódott a petevezetékben, viszont a MIP+pGP3 vakcina nem nyújtott szignifikánsan jobb védelmet, mint az egyedi immunizálás. Összességében a tanulmány megmutatta, hogy mind a MIP, mind a pGP3 képes kereszt-szerovariáns védelmet indukálni a chlamydia genitális fertőzéssel szemben, valamint hangsúlyozta a többféle fehérje alegységből álló vakcinák fontosságát a *C. trachomatis* fertőzés megelőzésében¹⁷. Egy további tanulmányban egy tandem multiepitóp pGP3 vakcina-jelölt védő hatását tesztelték *C. psittaci* fertőzéssel szemben. Balb/c egereket intraperitoneálisan immunizáltak tandem-peptid antigénekkkel, majd intranazálisan fertőzték azokat *C. psittacival*. Az eredmények alapján a tandem-peptid antigének erős humorális és celluláris immunválaszt indukáltak magas Th1-kapcsolt (IFN-γ és IL-2) és proinflammatorikus (IL-6) citokinszintekkel. A chlamydia fertőzést követően szignifikánsan csökkent a patogén mennyisége és a gyulladós infiltráció az immunizált egerek tüdejében. Szignifikánsan csökkent a szekretált IFN-γ és IL-6 szint a fertőzött tüdőkben¹⁸, mely eredmények összevágának az általunk korábban leírtakkal¹⁹. Peng és mtsai szerint mind a monomer (hődenaturált) mind pedig a trimer pGP3 proteinnel immunizálva az egereket jelentős ellenanyagválaszt kaptak, viszont csak a trimer által indukált antitest ismerte fel az endogén pGP3-at, valamint a trimerral immunizált egér lépsejtek mutattak magasabb IFN-γ termelést *in vitro* chlamydia elemi testekkel vagy pGP3 proteinnel végzett restimulációra. Továbbá a pGP3 trimerral immunizált egerek rövidebb ideig ürítették a chlamydiát, és csökkent a felső nemi traktus patológiás elváltozása is²⁰. Shu és csoportja a pGP3 immunogenitását IL-12 együttes adásával, valamint transzportját és felvételét egy új adjuváns, a kitozán-részecske stabilizált Pickering emulzió alkalmazásával próbálta fokozni (pGP3/CSPE/IL12). A pGP3/CSPE/IL-12 vakcina szignifikánsan magasabb szintű pGP3-specifikus IgG, IgG1, IgG2a, sIgA emelkedést és jelentős citokin-szekréciót (IFN-γ, IL-2, TNF-α, IL-4) eredményezett. Csökkent továbbá a hüvelyi chlamydia ürítés és a hydrosalpinx kialakulása, a pGP3/CSPE/IL-12-vel immunizált egerekben²¹. Ugyanez a kutatócsoport számolt be arról, hogy a grafénalapú nanorészecskék (GOQDs) potenciális felületaktív anyag helyettesítők lehetnek a Pickering-emulziók stabilizálására, köszönhetően nagy felületüknek, biológiai lebomlásuknak és elfogadható biokompatibilitásuknak. A GOQDs-stabilizált Pickering-emulziót (GQPE) használták adjuvánsként a rekombináns pGP3 hatásának fokozására. A GQPE erősen aktiválta az adaptív immunitást az IgG, sIgA, IFN-γ, IL-4

és TNF- α termelés hatékony stimulálásával. Az antigének kontrollált felszabadulása *in vivo* és *in vitro* is meghosszabbította az immunválaszt, továbbá a GQPE az oltás helyén fokozta a dendritikus sejtek toborzását, biztosítva a gyors és hatékony veleszületett immunitást²². További kísérletekben Balb/c egerekben alkalmazva, az adjuváns szignifikáns T helper1 (Th1)-típusú celluláris immunválaszt váltott ki, valamint az immunizált állatok *C. muridarum* fertőzése azt jelezte, hogy az adjuváns fokozta a pGP3 indukálta immunvédelmet, melyet a kevesebb chlamydia szám és az enyhébb patológiai kép bizonyított²³. A flagellin, egy TLR5 agonista szelektíven stimulálhatja az immunitást és adjuvánsként működhet. Zhao és mtsai sikeresen expresszálták és tisztították FliC-pGP3 rekombináns. A FliC-pGP3 vakcinával történő tripla immunizálás Balb/c egerekben gyors és tartós germinális központ B-sejt választ és follicularis helper T-sejt differenciálódást indukált, szignifikánsan magasabb IgG antitest titerrel összehasonlítva a pGP3-oltott csoporttal. A FliC-Pgp3 immunizálás elsősorban Th1-típusú celluláris immunitást indukált, ami magasabb szintű IFN- γ , TNF- α és IL-2 szekréciót eredményezett a CD4⁺ T-sejtek által. A *C. muridarum* fertőzés eredményei azt mutatták, hogy a FliC-Pgp3-val vakcinált egerek gyorsan eliminálták a *C. muridarum* az alsó nemi traktusban és a hydrosalpinx előfordulása is alacsonyabb volt²⁴. A fentiek alapján úgy tűnik, hogy más immunizálási módot, protokollt, adjuváns használva a pGP3 fehérjére kialakult immunválasz fontos a különböző chlamydia fertőzések kivédésében, és más kutatócsoportok is hozzájuk hasonlóan a pGP3 proteint mint vakcinatargetet tartják számon. Irodalom a pGP4 fehérje vakcinaként való kipróbálásáról állatmodellben nem fellelhető. Fontos szerepet tulajdonítanak ennek a fehérjének a chlamydia plazmid gének és kromoszómális gének transzkripciójának szabályozásában. Ennek a fehérjének a hiányával hozták összefüggésbe, hogy a plazmidmentes *C. trachomatis* L2 nem képes a citoplazma zárványból és a fertőzött sejtől kijutni, valamint nem termel glikogént, ami a *C. trachomatis* zárványokat kitölti plazmid jelenlétében. A plazmidmentes *C. trachomatis in vitro* körülmények között kevésbé stimulálta a sejtek gyulladási citokin választ, bár ezt a jelenséget nem tudták egyértelműen a pGP4 fehérje hiányának tulajdonítani. Mivel a plazmidmentes *C. trachomatis* esetében csökkent patogenitást figyeltek meg, egérmodellben jelentősen csökkent a baktérium hydrosalpinx okozó képessége intravaginális oltás után, csökkent gyulladási beszűrődést észleltek a petevezetőben, potenciálisan védő szerepe lehet a pGP4 fehérje komponensnek egy vakcina jelöltben az ellene kialakult immunitásnak²⁵.

4. Ugyanez a kérdés CMV vakcinára vonatkozóan?

A CMV vakcinák tekintetében a hivatalos amerikai clinicaltrial.com honlapon 61 különböző stádiumú vakcina kipróbálás szerepel. Döntő többségük glycoprotein B (gB) alapú, ami ezen fehérje a fertőzés megelőzésében játszott szignifikáns szerepére utal. A gB-t használtuk mi is egérkísérleteinkben plazmid DNS vagy protein formában, így ezért az ilyen típusú humán kipróbálás alatti vakcinát említeném. Egy 2-es fázisú, placebo-kontrollált, randomizált, kettős vak vizsgálatban tesztelték a CMV rekombináns gB hatását MF59 adjuvánsal, összehasonlítva placeboval. Három adag CMV vakcinát vagy placebo adtak (0, 1 és 6 hónap) CMV-szeronegatív nőknek egy évvel a szülést követően. A nőknél negyedévente tesztelték a CMV fertőzést IgG antitest ELISA segítségével, a fertőzést vírus tenyésztéssel vagy immunblottal igazolták. 234 alanyt randomizáltak a vakcinált csoportba és 230 alanyt a placebo csoportba. A legalább egy év

követés után 18 fertőzés fordult elő a vakcinált és 31 a placebo csoportban. A Kaplan-Meier elemzés szerint a vakcinált csoport nagyobb valószínűséggel maradt fertőzésmentes a 42 hónapos időszak alatt, mint a placebo csoport. A vakcina hatékonysága 50% volt. Egy veleszületett fertőzés történt a vakcina csoportban, és három fertőzés a placebo csoportban. Ezek alapján a CMV gB vakcina potenciálisan csökkentheti az anyai és veleszületett CMV fertőzések előfordulását²⁶. Ugyanezt a vakcinát tesztelték egy randomizált, kettős vak, placebo-kontrollos, 2-es fázisú vizsgálatban, amelynek célja a CMV gB/MF59 vakcina biztonságosságának és hatékonyságának értékelése a szisztémás CMV megelőzésében egészséges serdülőkorú lányok körében. A tanulmányba 400 12-17 éves, CMV-szereonegatív lányt vontak be, és az egyik kimeneteli eredmény a szisztémás CMV fertőzés előfordulása volt, melyet a vizeletből detektáltak. Ezen klinikai kipróbálás eredményeiről nincsenek adatok (clinicaltrials.gov/study/NCT00133497). Egy 1-es fázisú vizsgálatban tesztelték a DNS alapú, trivalens (gB, pp65, és IE1) VCL-CT02 plazmid vakcina hatékonyságát szereonegatív egyénekben, akiket a későbbiekben Towne törzsszel oltottak. A kipróbálás eredményei nem elérhetőek (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT00373412>). Egy másik DNS alapú vakcinában (AS0113) a gB mellett megtalálható a pp65 is. A vakcina hatékonyságát és immunogenitását CMV-szeropozitív és CMV-szereonegatív egészséges emberekben, valamint CMV-szereonegatív dializált betegekben vizsgálták (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02103426>). A humán CMV vakcina kutatásnak nagy lendületet adott a COVID-19 megelőzésére kifejlesztett mRNS vakcina. A clinicaltrials.com oldalon több tanulmány is elérhető, melyek az mRNS alapú CMV gB-t is magukba foglaló vakcinát tesztelnek. Az mRNA-1647 vakcina a gB mellett tartalmaz egy pentamer (gH, gL, UL128, UL130, UL131) protein komplexet. Ezek a kipróbálások jelenleg is folynak még az mRNS vakcina újszerűsége miatt. Az mRNA-1647-P202 (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT04232280>) egy két részből álló tanulmány. Az első rész a vakcina biztonságosságát és immunogenitását értékeli három különféle dózisban alkalmazva, 0, 2, 6 hónapos időközönként, egészséges 18 és 40 éves CMV-szereonegatív és CMV-szeropozitív férfiak és nők körében. Egy közbenső elemzés, amely a biztonságosságát és immunogenitását értékeli a második dózis után segíti kiválasztani a megfelelő dózist a további fejlesztésre. A tanulmány második része a kiválasztott dózisú mRNA-1647 vakcina biztonságosságát és immunogenitását hivatott tovább értékelni körülbelül 200 egészséges résztvevőn, akiket 18 és 40 éves kor közötti, CMV-szereonegatív és CMV-szeropozitív nők közül válogatnak, így magában foglalja 3-as fázisú hatékonysági vizsgálat célpopulációját egyben. Egy további klinikai kipróbálásban az mRNA-1647 vakcina biztonságosságának, reaktogenitásának és immunogenitásának értékelése egy 1-es fázisú, randomizált, placebo-kontrollos tanulmányban is folyik, melybe az Egyesült Államokban élő egészséges CMV szereonegatív és szeropozitív japán felnőtteket (18-40 éves korosztály) involválnak (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT05105048>). Maga a CMV gB protein formában is kipróbálás alatt van, különböző mennyiségű gB proteint (0.5, 1, 2µg) önmagában vagy alumínium-hidroxiddal adjuválva adják CMV szereonegatív (18-40 éves) egyéneknek és a hatékonyságát tesztelik, az eredményekből még nem született tudományos közlemény (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02826798>). A HB-101 egy bivalens rekombináns vakcina (két replikációképtelen rekombináns lymphocytás choriomeningitis vírus (rLCMV) vektort tartalmaz, amely kifejezi a pp65-öt és az emberi CMV gB-jének egy „truncated”, rövidített izoformáját, (melyet korábbi egérkísérleteinkben mi is teszteltünk és immunogénebbnek találtunk). Egy randomizált, placebo-kontrollos, 2-es fázisú vizsgálatban értékeli a HB-101

biztonságosságát, reaktogenitását, immunogenitását és hatékonyságát CMV-szeronegatív és szeropozitív betegeknek, akik vesetranszplantációban részesülnek CMV-szeropozitív, illetve negatív élő donortól. A tanulmány hamarosan zárul és eredményei elérhetővé válnak (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT03629080>). A GlaxoSmithKline GSK Bio rekombináns gB antigénnel végezték az első emberi kipróbálást, amelynek célja a CMV jelölt vakcina biztonságosságának és immunogenitásának vizsgálata egy a GSK által kidolgozott adjuvánssal. A vakcinát fiatal, egészséges férfiak kapták 0, 1 és 6 hónapban. A vizsgálat további célja, hogy azonosítsa és validálja azt a tesztet, amely képes lesz megkülönböztetni a korábbi CMV fertőzés és a CMV oltás által indukált ellenanyagválaszt (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT00435396>). A fenti humán vakcina kipróbálások alapján az általunk egérben tesztelt gB és pp65 antigének fontos részét képezik egy lehetséges CMV vakcinának.

5. Nagyon érdekes eredmény, hogy a NCR247 erős anti-chlamydiás hatással rendelkezik. Milyen indikációban látja a jelölt a z NCR247 helyét a jövőben?

A kooperációs partnerünk és csoportja, akiktől az NCR247 peptidet kaptuk, intenzív kutatásokat folytat a peptid antimikrobiális használatának fejlesztésére. Az NCR247, mely az NCR család legkisebb peptidje, 24 aminosavból áll, melyek közül négy cisztein. Ez a kationos peptid (pI 10.15) egy olyan „áthatoló” peptid, amely a baktérium citoszoljába pórus formálás nélkül lép be, és rendkívül magas fehérjekötő képességgel rendelkezik, számos baktériumfehérjével lép interakcióba²⁷. A konzervált sejtosztódási FtsZ fehérjéhez kötődik, megakadályozva az FtsZ gyűrű képződését, és ezzel a baktériumsejtek osztódását. Az NCR247 számos riboszómális fehérjével interakcióba lép és gátolja a translációt, de a riboszómális gének transzkripcióját is lefelé szabályozza. Ennek megfelelően a különböző patogén baktériumok szintetikus NCR247-tel történő kezelése hatékonyan pusztította el nagy részüket²⁸. Kondorosi és kutatócsoportja egy nem régen megjelent cikkükben arról számoltak be, hogy új NCR247 származékokat terveztek és szintetizáltak, beleértve rövidebb fragmentumokat és különböző kimerikus származékokat annak érdekében, hogy fokozzák a peptid antimikrobiális hatását. Ezen peptidek antimikrobiális aktivitását az ESKAPE baktériumokon; *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* és *Escherichia coli*, és *Salmonella enterica* mint az Enterobacteriaceae család tagja, valamint a *Listeria monocytogenes* esetében tesztelték. Az NCR247 szintetikus N-terminális és C-terminális felének antimikrobiális aktivitásának tesztelése során kiderült, hogy az antimikrobiális aktivitás túlnyomórészt a C-terminális régióban található. Bár az antimikrobiális peptidek (AMP-k) pozitív töltése alapvető a baktériumöléshez, az NCR247C esetében a pozitív töltés növekedése (pI = 11.50) nem eredményezte az antimikrobiális aktivitás vagy az antimikrobiális spektrum javulását az NCR247-hez képest (pI = 10.15). Az NCR247C antimikrobiális aktivitása gyengébbnek bizonyult, ami lehet a megfelelő hajtogatás hiányának és/vagy a baktériummembránokkal való kölcsönhatás kudarcának következménye a rövid hossz miatt. A semleges StrepII címke hozzáadása az NCR247C peptidhez kismértékben javította az antibakteriális tulajdonságokat. Az NCR247C N-terminálisának a NCR335-ből származó 13 aminosav hosszú kationos peptiddel történő meghosszabbítása (D) növelte a pI-t 11,99-re, és jelentősen alacsonyabb MBC (minimális baktericid koncentráció) értékeket (1,6–12,5 µM) és szélesebb spektrumot eredményezett; mind a

nyolc vizsgált baktériumtörzs pusztulását eredményezte. A mastoparan rövidített változatának (az első három N-terminális aminosav hiányával) hozzáadása az NCR247C N- vagy C-terminálisához (F, H) hasonló mértékben növelte az antimikrobiális tulajdonságokat. A kimerikus peptidet a StrepII címkével történő további meghosszabbítása (G) még inkább növelte az aktivitást, elérve az 1,6–3,1 μM MBC-t minden baktériumon, kivéve az *E. faecalis* (MBC 12,5 μM). A kimerikus peptid általi ölés azonnali volt (kb. 0,1 perc) vagy nagyon gyors (max. 5 perc), míg a teljes ölés a levofloxacin esetén több mint 60 perc volt, a carbenicillin pedig még lassabban hatott. Az antibiotikumok lassabb ölési kinetikáján túl, a tesztelt baktériumok eliminálásához nagyon magas dózisokra (akár 10240 μM) volt szükség a carbenicillinből. A levofloxacin MBC értékei inkább hasonlítottak a kimerikus peptidéhez (D-H), hatásos volt a *S. aureus*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli* és *S. enterica* esetén ugyanabban a koncentráció tartományban, de valamivel kevésbé volt aktív a *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes* és *E. faecalis* esetében. Fontos, hogy a kimerikus peptid megőrizte aktivitását a Mueller Hinton levesben is, ahol a kationos AMP-k általában inaktíválódnak a kétértékű kationok (Ca^{2+} , Mg^{2+}) jelenléte miatt, amelyek megakadályozzák a baktérium membránokkal való kölcsönhatásukat²⁹. A G hibrid peptid számos *E. coli* fehérjével, többnyire riboszómális fehérjékkel lépett kölcsönhatásba. Az NCR247 néhány riboszómális fehérjével való kölcsönhatása elegendő lehet a transzláció gátlásához és a rezisztencia kialakulásának megakadályozásához. A csoport hangsúlyozza, hogy bár ismert több riboszómát célzó peptid antibiotikum is, amelyek különböző alegységekkel, számos riboszómális fehérjével lépnek kölcsönhatásba, és befolyásolják az iniciálást, az elongációs ciklust, a terminációt és a reciklálást a fehérjeszintézis során, azonban egyik ilyen peptid sem rendelkezik olyan széles körű kölcsönhatással a transzlációs gépezetre, mint az NCR247-alapú peptid. A mastoparan egy membránlizáló, 14 aminosavból álló peptid toxin, amely kölcsönhatásba lép a membránokkal és amfipatikus α -helikális szerkezetet vesz fel lipid környezetben, képes behatolni a biológiai membránokba, és mind a baktérium-, mind az emlős membránok permeabilizációját okozni, ami sejtlízissel végződik. Nem várt módon, az első három aminosav elvesztésével a rövidített mastoparan (X2) nem okozott hemolízist, de ennek megfelelően sokkal gyengébb antimikrobiális aktivitást mutatott. Az X2 összekapcsolása az NCR247C-vel szinergikus hatást váltott ki, jelentősen javítva az antimikrobiális hatékonyságot.³⁰

Összefoglalva, Kondorosi és mtsai sikeresen megterveztek és előállították a szimbiotikus antimikrobiális növényi peptid, az NCR247 peptid több kimerikus származékát, melyek rendkívül gyors ölési kapacitással, alacsony MBC értékekkel rendelkeznek, számos bakteriális célpontra hatnak, viszont emberi sejtekre nem gyakorolnak toxikus hatást³⁰. Az NCR származékok ezen tulajdonságai ígéretessé teszik őket antimikrobiális szerekként klinikai felhasználásra, reményeink szerint jó anti-chamydiális hatással is bírnak.

6. Kérem a jelöltet, hogy hasonlítsa össze a BALBc és C57BL/6N egér modellek immunológiai és egyéb tulajdonságait, illetve ismertesse, hogy ezek milyen mértékben felelősek az egér fajokban megfigyelt különböző immunológiai hatásokért?

A Balb/c és a C57BL egerek két különböző törzsbe tartoznak a Balb/c egerek MHC osztályukban a H-2d allélot, a C57BL/6 egerek (más néven "Black 6") az MHC osztályukban a H-2b allélot hordozzák. Ezek a genetikai különbségek hatással lehetnek az immunrendszer működésére és a

gazda betegségekkel szembeni érzékenységére. A Balb/c és a C57BL/6 egerek közötti különbségek az immunválaszokban gyakran a citokin jelátviteli utak eltéréseire vezethetők vissza. Különösen az IL-12/IFN- γ tengely és azok hatása a Th1/Th2 egyensúlyra jelentős különbséget mutat ezen egértörzsek között. C57BL/6 egerekben az IL-12/IFN- γ tengely erősebb kifejeződést mutat, ami elősegíti a Th1 típusú immunválaszt³¹. Az IL-12 serkenti az IFN- γ termelést, ami növeli a Th1 sejtek differenciálódását, támogatva a sejtes immunitást, ami fontos számos intracelluláris patogénnel szembeni védekezésben. Ez a fokozott Th1 válasz segíti a C57BL/6 egereket a vírusok és egyes baktériumok, például a *Listeria monocytogenes* elleni védekezésben. Balb/c egerek esetében gyengébb az IL-12/IFN- γ tengely, ami miatt kevésbé domináns a Th1 válasz, és erőteljesebb a Th2 válasz. A Th2 jelátviteli út különbségei a C57BL/6 és Balb/c egerek között jelentősen befolyásolják az immunválaszok típusát és hatékonyságát. A Th2 válaszok kulcsfontosságú elemei az antitest-termelés, az eozinofil aktiváció, és a macrophágok M2 polarizációja, amelyek fontosak a paraziták elleni védekezésben és az allergiás reakciókban. A Th2 jelátviteli útvonalak, mint az IL-4, IL-5, IL-13, és a GATA3 transzkripciós faktor, fontos szerepet játszanak ebben a folyamatban. A Balb/c egerek jellemzően erősebb Th2 választ produkálnak, részben az IL-4 és a Th2 sejtek differenciálódását elősegítő GATA3 transzkripciós faktor magasabb szintű kifejeződése miatt³². Az IL-4 serkenti az IgE antitestek termelődését és elősegíti az eosinophil sejtek differenciálódását, amelyek kulcsszerepet játszanak a Th2 típusú immunválaszokban, mint például allergiás reakciókban és parazitafertőzések elleni védekezésben. A C57BL/6 egerek kevésbé hajlamosak a Th2 domináns válaszra, részben azért, mert kevésbé erős az IL-4 és GATA3 kifejeződés, ami alacsonyabb szintű Th2 választ eredményez. Az IL-5 fontos az eosinophil sejtek életben tartásában és differenciálódásában, míg az IL-13 a szöveti válaszokban és az antitest termelésben játszik szerepet. A Balb/c egerekben ezek a citokinek erősebb választ válthatnak ki, ami hajlamosabbá teszi őket az eosinophil sejtekkel kapcsolatos betegségekre és Th2-medált szöveti válaszokra. E különbségek miatt a Balb/c egereket gyakran használják allergiás és asztmás betegségmodellekben, ahol a Th2 válaszok dominálnak^{33,34} míg a C57BL/6 egereket inkább azokban a kutatásokban részesítik előnyben, ahol a Th1 immunitás és a sejtes immunitás fontosabb^{35,36}. A Th17 sejtek, amelyek az IL-17 citokint termelik, fontos szerepet játszanak a gyulladásos válaszokban, különösen bizonyos autoimmun betegségek és a baktériumok, gombák elleni védekezésben. A Th17 sejtek differenciálódása és funkciója részben genetikai háttértől függ, ami magyarázatot adhat arra, hogy a Balb/c és a C57BL/6 egerek között hogyan mutatkozhatnak különbségek a Th17 válaszban. C57BL/6 egerekben a kutatások kimutatták, hogy erős Th17 választ képesek generálni bizonyos körülmények között, például autoimmun encephalomyelitis (EAE) modellben³⁷, ami az emberi sclerosis multiplex egy állatmodellje. A C57BL/6 egerek Th17 sejtjei fontos szerepet játszhatnak az EAE kialakulásában és progressziójában³⁸, ami azt sugallja, hogy ez a törzs jobban modellez bizonyos Th17-medált betegségeket. Általánosságban véve, a Balb/c egerek erősebb Th2 választ mutatnak, ami befolyásolhatja a Th17 válaszok kialakulását és intenzitását. Bár képesek Th17 választ generálni, az elérhető kutatások azt mutatják, hogy bizonyos esetekben, mint például a colitis modellben, a Balb/c egerek kevésbé lehetnek hajlamosak a Th17-medialt gyulladásra, vagy eltérő módon reagálhatnak, összehasonlítva a C57BL/6 törzssel³⁹. A C57BL/6 egerek nagyobb komplement aktiváló képességgel is rendelkeznek a Balb/c egerekhez viszonyítva⁴⁰, melynek segítségével a C57BL/6 egerek eliminálhatják az extracelluláris baktériumokat. A két törzsben különböznek az immunregulációs mechanizmusok is, ahogy ezt a

Strongyloides ratti fertőzésük is tanúsítja. A különböző regulációs körök indukálásával, egértörzsspecifikus módon történik: a Foxp3⁺ szabályozó T-sejtek (Treg) eltávolítása javítja a *S. ratti* elleni immunitást Balb/c, ezzel szemben nem a C57BL/6 egerekben⁴¹.

A genetikai háttérük miatt a két törzs eltérő hajlammal rendelkezik továbbá az autoimmun betegségek kialakulására. Például a Balb/c egerek hajlamosabbak lehetnek autoimmun betegségekre, mint például a rheumatoid arthritis⁴² vagy a lupus⁴³, míg a C57BL/6 egereket inkább a diabetes és az autoimmun encephalomyelitis modellezésére használják⁴⁴. A Balb/c egereket gyakran használják humán tumor xenograft modellekben, részben az immunrendszerük sajátosságai és a Th2 típusú válaszok miatt, amelyek elősegíthetik a tumor növekedését⁴⁵. Ez nem azt jelenti, hogy csak Balb/c egereket használnak a különböző tumor modellekben, ellenkezőleg a természetes ölüsejtek aktivitása, amely fontos szerepet játszik a daganatellenes aktivitásban, viszonylag magas a C57BL/6 egereknél. A C57BL/6 egerek ellenállóak az eger CMV-vel szemben is, a LY49 receptor kifejeződésük révén. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az NK sejtek által közvetített aktivációs jelek fontos szerepet játszhatnak a tenyésztett törzsek közötti immunválasz különbségeiben. Az ilyen modellek lehetővé tehetik a kutatók számára, hogy jobban megértsék az NK sejtek szerepét az immunválaszban, valamint új terápiás célpontokat és kezelési stratégiákat fejlesszenek ki a rák és a vírusos megbetegedések elleni küzdelemben⁴⁶.

Összességében mind a Balb/c, mind a C57BL/6 egerek fontos modellrendszerek az immunválasz tanulmányozásában és a betegségek modellezésében. A két törzs közötti genetikai különbségek lehetővé teszik, hogy megértsük az immunrendszer változatosságát és az egyes betegségek kialakulásának mechanizmusát, azonban figyelembe kell venni, hogy ezek a kísérletek eredményei általánosításra csak fenntartásokkal alkalmasak az emberi populációra vetítve.

7. Kérem a jelöltet, hogy ismertesse a D-vitamin szerepét a *Chlamydia* fertőzések lefolyásában és megelőzésében.

A D-vitamin szerepe a chlamydia fertőzésekben még kevésbé vizsgált terület, a PubMeden fellelhető két releváns cikk és egy harmadik (a PubMeden nem szerepel), a chlamydiák és a D-vitamin kapcsolatát boncolgatja. A D-vitamin (1,25-dihidroxi-vitamin D3) szerepet játszik a szerzett immunitásban, és hozzájárul az epithel sejtekben gazdaszervezetet védő peptidek előállításához, ami arra utal, hogy szerepe lehet a nyálkahártya védelmében az infekciókkal szemben. He és csoportja vizsgálta, hogy a D-vitamin képes-e csökkenteni a chlamydia fertőzés súlyosságát. D-vitamin receptor génkiütött VDR^{-/-} és vad típusú VDR^{+/+} egereket, valamint *in vitro* HeLa sejteket fertőztek *Chlamydia muridarum*mal 1,25-dihidroxi-vitamin D3 jelenlétében és hiányában. A VDR^{-/-} egerek szignifikánsan magasabb baktérium mennyiséget mutattak, mint a vad típusú VDR^{+/+} egerek, és a chlamydia fertőzést 39 nap alatt eliminálták, míg a VDR^{+/+} egerek 18 nap alatt. Több monocytá és neutrophil sejt fordult elő a méhben és petevezetékben VDR^{-/-} egerekben, mint a VDR^{+/+} egerekben a fertőzés utáni 45. napon. A HeLa sejtek előkezelése különböző mennyiségű 1,25-dihidroxi-vitamin D3-mal csökkentette a *C. muridarum* fertőzőképességét. Több különbözően expresszáldott fehérjét detektáltak a proteomikai elemzés során a 1,25-dihidroxi-vitamin D3-mal előkezelt chlamydia-fertőzött HeLa sejtekben, pl. emelkedett a leukocita elasztáz inhibitor (LEI) (egy gyulladáscsökkentő fehérje) kifejeződése. A LEI kifejeződése a petefészekben és petevezetékben a fertőzött VDR^{+/+} egerekben nagyobb volt,

mint a fertőzött VDR^{-/-} egerekben. Ezek alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a D-vitamin csökkenti a chlamydia fertőzés kockázatát többféle fehérje szabályozásával, és hogy a LEI hozzájárul a gyulladáscsökkentő hatásához⁴⁷.

A gazda immunrendszerének genetikai különbözőségei befolyásolhatják a fertőzések lefolyását. A kutatások alapján a D-vitaminnak pozitív hatása van az immunrendszer szabályozására. Lanjouw és mtsai egy tanulmányban azt vizsgálták, hogy a D vitamin metabolizmusával kapcsolatos öt génben előforduló nyolc génpolimorfizmus [VDR (rs1544410 G > A, rs2228570 C > T), CYP27B1 (rs10877012 G > T), DHCR7 (rs7944926 G > A, rs3829251 G > A), GC (rs3755967) és CYP2R1 (rs10741657 G > A, rs2060793 G > A)] milyen hatással van az emberek chlamydia fertőzésre való hajlamára. Az említett polimorfizmusok befolyásolhatják a fehérjék kifejeződését vagy funkcióját, és ezzel befolyásolhatják a gazda immunrendszerét. Munkájuk során az STD ambulanciát látogató nők mintáit dolgozták fel genotípezálással. A tanulmányban nem észleltek statisztikailag szignifikáns különbségeket a polimorfizmusok genotípus-eloszlásában, a chlamydia-fertőzöttek és a nem fertőzöttek között. Ez azt sugallja, hogy a VDR, a CYP27B1, a DHCR7, a GC és a CYP2R1 nem befolyásolják a chlamydia fertőzésekre való hajlamot⁴⁸.

A harmadik tanulmányban, mely a PubMeden nem szereplő *Chinese Journal of Microbiology and Immunology* folyóiratban jelent meg, Zhao és mtsai célja a szérumban D-vitamin szint és a *C. trachomatis* genitourinális traktus fertőzés előfordulása közötti korreláció vizsgálata volt. A tanulmányba 174 beteget (95 férfi, 79 nő) vontak be, akik *C. trachomatis* fertőzésben szenvedtek, valamint kontrollként 380 egészséges személy (211 férfi, 169 nő) szolgált. A kísérlet során a *C. trachomatis* fertőzött csoportból a vérmintát az antibiotikum kezelés előtt és után is vizsgálták. A szérumban található 25-hidroxivitamin D szintjét ELISA módszerrel mérték. PCR-vizsgálatot a kórokozó kimutatására egy hónappal a kezelési folyamat után végezték el a betegekben. Két eset-kontroll tanulmányt csináltak, amelyekben 161 beteget és 161 egészséges személyt, valamint 41 nem gyógyult beteget és 41 gyógyult beteget véletlenszerűen választottak ki és párosítottak össze nem és kor szerint. Az eredmények azt mutatták, hogy a D-vitamin hiány kockázati tényező mind a *C. trachomatis* fertőzésben, mind pedig az antibiotikum kezelés gyenge hatásosságában. A 20-39 éves korosztályban az összes férfi betegeknek szignifikánsan alacsonyabb szérumban 25-hidroxivitamin D szintje volt, az egészséges férfiak szintjével összevetve, ugyanezt tapasztalták a nők esetében is. Hasonlóan az előzőekhez az összes nem gyógyult férfi és női betegnek alacsonyabb 25-hidroxivitamin D-t mérték a szérumban, mint a gyógyult férfiak és nők esetében. A következtetésük szerint a D-vitamin hiány összefüggést mutat a *C. trachomatis* fertőzéssel, az alacsonyabb szérumban D-vitamin szint növelheti a genitourinális traktus fertőzésének kockázatát és csökkentheti a kezelés hatékonyságát⁴⁹.

Jó néhány évvel ezelőtt, a COVID-19 érárt megelőzően kutatócsoportunk is foglalkozott a D-vitaminnal a *C. pneumoniae* fertőzésre gyakorolt hatásával, mivel eddig még ezen kórokozó által okozott fertőzésre kifejtett hatásáról még nem született közlemény. Előzetes eredményeink alapján a D vitamin kezelés *in vitro* és *in vivo* Balb/c egérmodellben alkalmazva fokozta a *C. pneumoniae* szaporodását, ami ellentétes eredmény a *C. trachomatis* fertőzés során tapasztaltakkal. A kísérleteinket a jövőben szeretnénk többször megismételni és tisztázni a D vitamin szerepét nagy áteresztőképességű génextpressziós és proteomikai vizsgálatok bevonásával *C. pneumoniae* fertőzött egerekben.

Irodalomjegyzék

1. Steinhoff D, Lode H, Ruckdeschel G, et al. Chlamydia pneumoniae as a cause of community-acquired pneumonia in hospitalized patients in Berlin. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1996;22(6):958-964. doi:10.1093/clinids/22.6.958
2. Marrie TJ, Peeling RW, Fine MJ, Singer DE, Coley CM, Kapoor WN. Ambulatory patients with community-acquired pneumonia: the frequency of atypical agents and clinical course. *Am J Med*. 1996;101(5):508-515. doi:10.1016/s0002-9343(96)00255-0
3. Moss TR, Darougar S, Woodland RM, Nathan M, Dines RJ, Cathrine V. Antibodies to Chlamydia species in patients attending a genitourinary clinic and the impact of antibodies to *C. pneumoniae* and *C. psittaci* on the sensitivity and the specificity of *C. trachomatis* serology tests. *Sex Transm Dis*. 1993;20(2):61-65. doi:10.1097/00007435-199303000-00001
4. Ozanne G, Lefebvre J. Specificity of the microimmunofluorescence assay for the serodiagnosis of Chlamydia pneumoniae infections. *Can J Microbiol*. 1992;38(11):1185-1189. doi:10.1139/m92-194
5. Fujita J, Kinjo T. Where is *Chlamydophila pneumoniae* pneumonia? *Respir Investig*. 2020;58(5):336-343. doi:10.1016/j.resinv.2020.06.002
6. Kókai D, Paróczai D, Virok DP, et al. Ambroxol Treatment Suppresses the Proliferation of Chlamydia pneumoniae in Murine Lungs. *Microorganisms*. 2021;9(4):880. doi:10.3390/microorganisms9040880
7. Kókai D, Mosolygó T, Virók DP, Endrész V, Burián K. N-acetyl-cysteine increases the replication of Chlamydia pneumoniae and prolongs the clearance of the pathogen from mice. *J Med Microbiol*. 2018;67(5):702-708. doi:10.1099/jmm.0.000716
8. Mullin S, Smith L, Lee K, et al. Ambroxol for the Treatment of Patients With Parkinson Disease With and Without Glucocerebrosidase Gene Mutations: A Nonrandomized, Noncontrolled Trial. *JAMA Neurol*. 2020;77(4):427-434. doi:10.1001/jamaneurol.2019.4611
9. Yamada T, Takemura Y, Niisato N, Mitsuyama E, Iwasaki Y, Marunaka Y. Action of N-acylated ambroxol derivatives on secretion of chloride ions in human airway epithelia. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;380(3):586-590. doi:10.1016/j.bbrc.2009.01.122
10. Krysanieva AI, Voronina JK, Safin DA. A Novel Ambroxol-Derived Tetrahydroquinazoline with a Potency against SARS-CoV-2 Proteins. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5):4660. doi:10.3390/ijms24054660
11. Li J, Yi W, Jiang P, Sun R, Li T. Effects of ambroxol hydrochloride on concentrations of paclitaxel and carboplatin in lung cancer patients at different administration times. *Cell Mol Biol Noisy--Gd Fr*. 2016;62(13):85-89. doi:10.14715/cmb/2016.62.13.15
12. Wang X, Wang L, Wang H, Zhang H. Perioperative Lung Protection Provided by High-Dose Ambroxol in Patients with Lung Cancer. *Cell Biochem Biophys*. 2015;73(2):281-284. doi:10.1007/s12013-015-0590-z
13. Ollier C, Sent U, Mesquita M, Michel MC. Pharmacokinetics of Ambroxol Sustained Release (Mucosolvan® Retard) Compared with Other Formulations in Healthy Volunteers. *Pulm Ther*. 2020;6(1):119-130. doi:10.1007/s41030-020-00116-7

14. Cheng X, Sun M, Gao Y, Cao F, Zhai G. Design and evaluation of osmotic pump-based controlled release system of Ambroxol Hydrochloride. *Pharm Dev Technol.* 2011;16(4):392-399. doi:10.3109/10837451003774385
15. Md S, Abdullah ST, Alhakamy NA, et al. Ambroxol Hydrochloride Loaded Gastro-Retentive Nanosuspension Gels Potentiate Anticancer Activity in Lung Cancer (A549) Cells. *Gels Basel Switz.* 2021;7(4):243. doi:10.3390/gels7040243
16. Badamchi-Zadeh A, McKay PF, Holland MJ, et al. Intramuscular Immunisation with Chlamydial Proteins Induces Chlamydia trachomatis Specific Ocular Antibodies. *PLoS One.* 2015;10(10):e0141209. doi:10.1371/journal.pone.0141209
17. Luan X, Peng B, Li Z, et al. Vaccination with MIP or Pgp3 induces cross-serovar protection against chlamydial genital tract infection in mice. *Immunobiology.* 2019;224(2):223-230. doi:10.1016/j.imbio.2018.11.009
18. Wang C, Li Y, Wang S, et al. Evaluation of a tandem Chlamydia psittaci Pgp3 multi-epitope peptide vaccine against a pulmonary chlamydial challenge in mice. *Microb Pathog.* 2020;147:104256. doi:10.1016/j.micpath.2020.104256
19. Mosolygó T, Szabó AM, Balogh EP, et al. Protection promoted by pGP3 or pGP4 against Chlamydia muridarum is mediated by CD4(+) cells in C57BL/6N mice. *Vaccine.* 2014;32(40):5228-5233. doi:10.1016/j.vaccine.2014.07.039
20. Peng B, Zhong S, Hua Y, et al. Efficacy of Pgp3 vaccination for Chlamydia urogenital tract infection depends on its native conformation. *Front Immunol.* 2022;13:1018774. doi:10.3389/fimmu.2022.1018774
21. Shu M, Zhao L, Shi K, Lei W, Yang Y, Li Z. Chitosan particle stabilized Pickering emulsion/interleukin-12 adjuvant system for Pgp3 subunit vaccine elicits immune protection against genital chlamydial infection in mice. *Front Immunol.* 2022;13:989620. doi:10.3389/fimmu.2022.989620
22. Zhao L, Shu M, Shi K, Tang S, Li Z. Novel use of graphene oxide quantum dots in a pickering emulsion as a Chlamydia trachomatis vaccine adjuvant. *Int Immunopharmacol.* 2023;118:110035. doi:10.1016/j.intimp.2023.110035
23. Zhao L, Shu M, Chen H, Shi K, Li Z. Preparation of graphene oxide-stabilized Pickering emulsion adjuvant for Pgp3 recombinant vaccine and enhanced immunoprotection against Chlamydia Trachomatis infection. *Front Immunol.* 2023;14:1148253. doi:10.3389/fimmu.2023.1148253
24. Zhao L, Wang X, Li Z. A novel chimeric recombinant FliC-Pgp3 vaccine promotes immunoprotection against Chlamydia muridarum infection in mice. *Int J Biol Macromol.* 2024;258(Pt 1):128723. doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.128723
25. Zhong G. Chlamydial Plasmid-Dependent Pathogenicity. *Trends Microbiol.* 2017;25(2):141-152. doi:10.1016/j.tim.2016.09.006
26. 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

27. Farkas A, Maróti G, Durgó H, et al. Medicago truncatula symbiotic peptide NCR247 contributes to bacteroid differentiation through multiple mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(14):5183-5188. doi:10.1073/pnas.1404169111
28. Tiricz H, Szucs A, Farkas A, et al. Antimicrobial nodule-specific cysteine-rich peptides induce membrane depolarization-associated changes in the transcriptome of *Sinorhizobium meliloti*. *Appl Environ Microbiol*. 2013;79(21):6737-6746. doi:10.1128/AEM.01791-13
29. Hancock REW, Sahl HG. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nat Biotechnol*. 2006;24(12):1551-1557. doi:10.1038/nbt1267
30. Jenei S, Tiricz H, Szolomájer J, et al. Potent Chimeric Antimicrobial Derivatives of the Medicago truncatula NCR247 Symbiotic Peptide. *Front Microbiol*. 2020;11:270. doi:10.3389/fmicb.2020.00270
31. Kuranaga N, Kinoshita M, Kawabata T, Shinomiya N, Seki S. A defective Th1 response of the spleen in the initial phase may explain why splenectomy helps prevent a *Listeria* infection. *Clin Exp Immunol*. 2005;140(1):11-21. doi:10.1111/j.1365-2249.2005.02735.x
32. Tacchini-Cottier F, Zweifel C, Belkaid Y, et al. An immunomodulatory function for neutrophils during the induction of a CD4⁺ Th2 response in BALB/c mice infected with *Leishmania major*. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2000;165(5):2628-2636. doi:10.4049/jimmunol.165.5.2628
33. Qian LJ, Kang SM, Xie JL, et al. Early-life gut microbial colonization shapes Th1/Th2 balance in asthma model in BALB/c mice. *BMC Microbiol*. 2017;17(1):135. doi:10.1186/s12866-017-1044-0
34. Yun X, Shang Y, Li M. Effect of *Lactobacillus salivarius* on Th1/Th2 cytokines and the number of spleen CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg in asthma Balb/c mouse. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(7):7661-7674.
35. Zhang L, Jiang Y, Cui Z, et al. *Mycobacterium vaccae* induces a strong Th1 response that subsequently declines in C57BL/6 mice. *J Vet Sci*. 2016;17(4):505-513. doi:10.4142/jvs.2016.17.4.505
36. Takatsu K, Kariyone A. The immunogenic peptide for Th1 development. *Int Immunopharmacol*. 2003;3(6):783-800. doi:10.1016/S1567-5769(02)00209-6
37. Li Z, Nie L, Chen L, Sun Y, Li G. Rapamycin relieves inflammation of experimental autoimmune encephalomyelitis by altering the balance of Treg/Th17 in a mouse model. *Neurosci Lett*. 2019;705:39-45. doi:10.1016/j.neulet.2019.04.035
38. Ma K, Chen X, Chen JC, et al. Rifampicin attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting pathogenic Th17 cells responses. *J Neurochem*. 2016;139(6):1151-1162. doi:10.1111/jnc.13871
39. Yang F, Wang D, Li Y, et al. Th1/Th2 Balance and Th17/Treg-Mediated Immunity in relation to Murine Resistance to Dextran Sulfate-Induced Colitis. *J Immunol Res*. 2017;2017:7047201. doi:10.1155/2017/7047201
40. Ogunremi O, Tabel H, Kremmer E, Wasiliu M. Differences in the activity of the alternative pathway of complement in BALB/c and C57Bl/6 mice. *Exp Clin Immunogenet*. 1993;10(1):31-37.

41. Hartmann W, Blankenhaus B, Brunn ML, Meiners J, Breloer M. Elucidating different pattern of immunoregulation in BALB/c and C57BL/6 mice and their F1 progeny. *Sci Rep.* 2021;11(1):1536. doi:10.1038/s41598-020-79477-7
42. Glant TT, Radacs M, Nagyri G, et al. Proteoglycan-induced arthritis and recombinant human proteoglycan aggrecan G1 domain-induced arthritis in BALB/c mice resembling two subtypes of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011;63(5):1312-1321. doi:10.1002/art.30261
43. González-Correa C, Moleón J, Miñano S, et al. Trimethylamine N-Oxide Promotes Autoimmunity and a Loss of Vascular Function in Toll-like Receptor 7-Driven Lupus Mice. *Antioxid Basel Switz.* 2021;11(1):84. doi:10.3390/antiox11010084
44. Etebar F, Hosseini SH, Borhani Zarandi M, Moghadasi AN, Jalousian F. The immunomodulatory effects of the C-type lectin protein of *Toxocara canis* on experimental autoimmune encephalomyelitis. *Parasite Immunol.* 2023;45(11):e13010. doi:10.1111/pim.13010
45. Wang R, Deng Z, Zhu Z, et al. Kaempferol promotes non-small cell lung cancer cell autophagy via restricting Met pathway. *Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm.* 2023;121:155090. doi:10.1016/j.phymed.2023.155090
46. Song HK, Hwang DY. Use of C57BL/6N mice on the variety of immunological researches. *Lab Anim Res.* 2017;33(2):119-123. doi:10.5625/lar.2017.33.2.119
47. He Q, Ananaba GA, Patrickson J, et al. Chlamydial infection in vitamin D receptor knockout mice is more intense and prolonged than in wild-type mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;135:7-14. doi:10.1016/j.jsbmb.2012.11.002
48. Lanjouw E, Branković I, Pleijster J, et al. Specific polymorphisms in the vitamin D metabolism pathway are not associated with susceptibility to *Chlamydia trachomatis* infection in humans. *Pathog Dis.* 2016;74(3):ftw010. doi:10.1093/femspd/ftw010
49. Zhao T, Liu Y, Shao L, et al. Preliminary correlation analysis between human serum vitamin D level and *Chlamydia trachomatis* genitourinary tract infection. *Chin J Microbiol Immunol.* Published online 2018:761-767.