

Válaszok Dr. Csörgő Sándorné Dr. Bata Zsuzsanna egyetemi tanár opponensi véleményére

Szeretném megköszönni a dolgozatom alapos áttekintését, a pozitív visszajelzéseket, valamint a klinikailag releváns kérdéseket. Ezekre a válaszaim a következők:

1. *Ezeknek az in vitro sejt kultúra vizsgálatoknak hol van a legnagyobb hiányossága a szerző szerint a mai ismeretek alapján. A sejt-sejt környezet, vagy az extracelluláris tér alkotói befolyásolják jobban a sejthalál folyamatokat. Mit lehet erről ma tudni?*

Az in vitro sejt kultúra vizsgálatok valóban rengeteg limitációval rendelkeznek, ezek eredményei óvatosan, fenntartásokkal értékelhetőek. Az egér és humán sejteken végzett vizsgálatok eltérései is jól ismertek. A sejt vonalak használata talán a mi érdeklődési területünket lefedő molekuláris, jelátviteli vizsgálatok során jelentheti a legnagyobb hasznot, de az eredményeket *in vivo* majd humán vizsgálatokkal is meg kell erősíteni.

A szöveti környezet jelentősen befolyásolja az immunválaszt és a sejthalál folyamatokat is. Az egyes szövetekben eltérő az immunogenitás/tolerogenitás egyensúlya, a pro/anit-inflammatórikus sejt populációk és a konstitutívan termelődő immunszuppresszív mediátorok aránya is. Az in vitro vizsgálatokban nem jelenik meg a neuroendokrin rendszer, az oxigén és tápanyag szint-ben vagy a pH-ban bekövetkező változások, a cirkadin ritmus, a mikorbiom az áramlási folyamatok, a visszacsatolási mechanizmusok és sok további faktor hatása.

Az egyes sejt típusok immunreaktivitása, sejthalál érzékenysége, az elhaló sejteket érzékelő sejt immunmoduláló hatásai is jelentősen eltérőek lehetnek. Vizsgálataink közül több is éppen a különböző sejt típusok eltérő immunológiai mechanizmusait, sejthalál érzékenységét hasonlította össze. (Érett és éretlen B sejt, M1 és M2 makrofágok, immunogén/tolerogén dendritikus sejt összehasonlítása.)

Az, hogy a fent felsoroltak közül melyik a „legnagyobb hiányosság” nehezen meghatározható.

Az egyes témákban lehetőség szerint a bemutatott eredményeket igyekeztünk több sejt vonalon, több sejt típuson is bemutatni. A dolgozatban bemutatott munkák során primer egér sejtekkel, egér *in vivo* vizsgálatokkal és primer humán sejtekkel (makrofágokkal, dendritikus sejtekkel, T sejtekkel) is dolgoztunk a különböző sejt vonalak mellett.

2. *Mit lehet tudni a citotoxikus T sejt extracelluláris vesikuláinak tartalmáról és egyéb hatásairól?*

A T sejtekből származó vezikulumokkal több közlemény foglalkozik (két vonatkozó review: 10.3389/fcell.2016.00084, 10.1155/2021/8481013). A T sejt típusa, az aktivációs szignál az előkezelések más-más exoszómák, vezikulumok termelődését eredményezik. Ezek a vezikulumok többek közt kemokinet, integrin, MHC molekulát, kostimulátor molekulát tartalmaznak. A citotoxikus T sejt (CTL) által termelt vezikulumoktól a helper T sejt immunpolarizáló micropartikulumain keresztül egészen a regulátor T sejt által termelt exoszómáig, amelyek többek közt akár a citotoxikus T sejt választ is gátolhatják (10.1038/s41577-022-00763-8, 10.1038/cmi.2010.59).

A CTL-ek FasL tartalmú vezikulum szekrécióját több publikáció kimutatta, humán sejtek esetében is (10.4049/jimmunol.163.3.1274, 10.3389/fimmu.2021.804895). Ezek a vezikulumok a fent felsoroltak mellett perforint és granzimeket és további TNF családba tartozó ligandumot TRAIL, GITR tartalmaznak, melyek részt vehetnek a sejthalál szabályozásában (10.4049/jimmunol.163.3.1274).

Eredményeink szerint a rekombináns FasL más sejthalál folyamatokat aktivál, mint a citotoxikus T sejtek FasL-ot expresszáló vezikulumai. Az eltérés legvalószínűbb magyarázata, hogy a vezikulum egyéb komponensei módosítják a FasL-indukált sejthalált. Sajnos semmilyen irodalmi adat nem utal erre a folyamatra, így a potenciális módosító ágens lehet fehérje, peptid, lipid, sejt permeábilis, vagy a vezikulummal a sejtbe jutó modulátor. Jelenlegi irodalmi adatok szerint (melyek nem a T sejt vezikulumokra vonatkoznak) a SMAC mimetikumok vagy a TAK1 kináz inhibitorok jelenlétében a Fas függő sejthalál Fas és RIPK1 függő sejthalál folyamattá alakul. Ezek T sejt vezikulumokban történő kimutatására vonatkozó vizsgálataink nem vezettek sikerre.

3. A ma ismert sejthalál típusok közül melyiket választaná tumorelleses terápiás targetnek? Vannak-e erre vonatkozó klinikai vizsgálatok?

Az egyes sejthalál formák szerepe egyre jobban ismert a tumorterápiában, de átütő sikerről még nem lehet beszámolni. Általános tumorelleses terápia a sejthalál területén sem állapítható meg, az egyes tumor típusokat, tumor stádiumokat egyedileg szükséges értékelni. A kérdéskör nagyon komplex, figyelembe kell venni az adott tumorsejt sejthalál érzékenységét, az elhaló sejtek immunválaszra gyakorolt hatását és az adott sejthalál folyamat hatását az immunrendszer és a tumor környezet más sejtjeire. Általánosságban elmondható, hogy míg a tumorokra jellemző az apoptotikus útvonalak gátlása, tumor típustól függően szenzitívek lehetnek nem-apoptotikus sejthalál formákra, így ezek indukálása ígéretes terápia lehetne. Azonban tumor típusonként eltérő, hogy milyen sejthalál elkerülő mechanizmusok alakultak ki, így a nekroptózis, piroptózis és ferroptózis jelátviteli útvonalai is több tumorban blokkoltak. Mind a ferroptózis, a nekroptózis és a piroptózis esetében kimutatták, hogy ezek a nekrotikus sejthalál folyamatok a gyulladás indukálásán keresztül fokozzák a metasztatizisok kialakulását, valamint az immunrendszer sejtjeit is elpusztíthatják, csökkentve a tumor ellens választás hatékonyságát (10.1038/s41392-022-01046-3, 10.1186/s13045-022-01392-3).

A kérdésben felvetett téma irodalma rendkívül széles. A legintenzívebb vizsgálatok ezen belül az immunogén sejthalálra vonatkoznak (10.1136/jitc-2019-000337). Ez olyan a sejthalál folyamatot jelent, amely a denritikus sejtek aktivációját, prezentációs képességét fokozza, így segíti a T sejt választ, ezen belül a citotoxikus sejtek aktivációját. Ez a sejthalál típus nem a molekuláris mechanizmusok szerint, hanem az immunológiai kimenet alapján osztályozza a sejthalált, így bizonyos apoptotikus, nekroptotikus, ferroptotikus, akár piroptotikus stimulusok is okozhatnak immunogén kimenetet. Az utóbbi években erős törekvés a tumor terápiában, hogy a tumor elölésekor olyan megközelítést alkalmazzunk, ami az immunogén sejthalálon keresztül az immunrendszer aktivációját is kiváltja, például metronomikus kemoterápia (10.1016/j.canlet.2018.01.050). A ClinicalTrials oldalon jelenleg 107 vizsgálat vonatkozik az immunogén sejthalálra.

Az immunogén sejthalált calreticulin, HMGB1, ATP, ANXA1 és IFN-I szekréciója jellemzi (10.1016/j.biopha.2023.115509). Szubjektív véleményem szerint a közeljövőben az alkalmazott terápia immunogénitálásának detektálásában várható az első jelentős klinikai haszonnal kecsegtető eredmény. Ha az egyes páciensekben a terápia során (vérből) visszamérhetővé válik, hogy az alkalmazott kezelés immunogén sejthalált indukált-e, az azonnal hasznosítható lenne a kezelési tervben (sugár/kemo/immunterápiák kiválasztása vagy módosítása).

Az immunogén sejthalál mellett is jelentős eredmények születtek az utóbbi években. Több már elfogadott szerről leírták (platina alapú szerek, proteaszóma inhibitorok), hogy alkalmasak szabályozott

nekrotikus sejthalál indukálására is. E mellett több közvetlenül sejthalál kiváltására fejlesztett szer tesztelése és klinikai vizsgálata zajlik a dolgozatban is említett SMAC mimetikumok vagy TAK1 inhibitorok mellett.

4. *Vannak-e immunmediált betegségekben hasonlóan sejthalált befolyásoló target terápiaik?*

Érdekes módon a sejthalál alulműködése (pl Autoimmun Limfoproliferatív Szindróma esetében), túlműködése és diszregulációja is immunmediált kórképek megjelenéséhez vezethet. Az autoimmun betegségekben, így endokrin mirigyeket érintő kórképekben, artritiszekben, SLE-ben különböző sejthalál folyamatok, így az apoptózis, ferroptózis nekroptózis, piroptózis, netózis túlműködését írták le. Az autoinflammatorikus betegségekben elsősorban a piroptózis intenzitása fokozódik. Sok gyulladással, krónikus gyulladással járó kórkép oka a túlzott nekrozis. Ez kialakulhat túlzott sejt pusztulás, vagy nem megfelelő sejthalál folyamat eredményeként, ahol az immunológiailag tolerogén apoptózis helyett valamilyen szabályozott nekrozis alakul ki (10.1038/s41419-022-04883-w, 10.3390/cells12131766).

A szabályozott nekrozis gátlására alkalmas inhibitorok új terápiás lehetőséget jelentenek, de sejthalál gátlók közül jelenleg egyedül az apoptózis gátló emricasan engedélyezett szer. Itt is sok már más indikációban elfogadott szerről kiderült, hogy gátolhatnak szabályozott nekrotikus folyamatokat is (pl PARP gátlók, melatonin). Nagy számú, ígéretes fejlesztés zajlik, jellemzően I-es, II-es fázisban nekroptózis, ferroptózis, piroptózis, parthanathos gátlására neurodegeneratív, autoimmun, autoinflammatorikus kórképekben (10.1038/s41419-019-2094-z, 10.3389/fphar.2024.1407335, 10.3390/ijms232416115, 10.1007/s00018-021-04109-w.)

A nekrozis során felszabaduló gyulladási mediátorok a DAMP-ok gátlása szintén ígéretes terápiás lehetőség. Itt az IL-1 gátlók több betegségben is sikerrel használtak. Ezen a területen az IL-1 gátlók mellett elsősorban a HMGB1, s100 molekulák gátlására, neutralizálására zajlanak klinikai vizsgálatok (10.1002/jcp.30125).

Még egyszer szeretném megköszönni dr. Csörgő Sándorné dr. Bata Zsuzsanna professzorasszonynak a releváns felvetéseket és az értekezés támogató bírálatát.

Debrecen, 2024. december 18.



Koncz Gábor