

Dr. Wilhelm Imola MTA doktora pályázata

**Válasz Prof. Dr. Zelena Dóra bírálatára**

Tisztelt Professzor Asszony!

Mindenekelőtt szeretném megköszönni Professzor asszonynak doktori dolgozatom bírálatát és pozitív értékelését.

*Mielőtt rátérek a kérdések megválaszolására, röviden reflektálok azokra a kritikai megjegyzéseire, amelyekre érdemi magyarázattal tudok szolgálni:*

Először is elnézést kérek a hibákért, a CB2 rövidítés feloldásának hiányáért és a helyenként részletesebb magyarázatot igénylő gondolatok kifejtésének elmaradásáért.

Ami a magyar nyelvezetet illeti, az angol kifejezést csak azokban az esetekben használtam, amikor az adott szakszó magyar fordítása nem ismert vagy nem elterjedt, és így nem tudtam eldönteni, hogy a jövőben használatossá válik-e. A szakkifejezések saját fordítását igyekeztem kerülni.

A 16. oldal 7. sorában „a használt állatfajtól függetlenül” kifejezés arra vonatkozik, hogy az *in vitro* modellekhez használt sejteket izolálhatjuk egérből, patkányból, sertésből, marhából vagy lehetnek emberi eredetűek.

Ami a témafelvetést és a munka jelentőségének bevezetését illeti, – bár a „hiánypótló” kifejezést a saját munkásságom tekintetében túlzónak érzem – egyetértek Professzor asszonnyal, hogy a munka fontosságát jobban ki kellett volna hangsúlyoznom a disszertáció elején. Sajnálom, hogy elmaradt.

A dolgozat szerkezetével kapcsolatban Professzor asszony több kritikát is megfogalmazott, amelyekre együttesen válaszolok. Az írás során azt a koncepciót követtem, hogy a törzsszövegben minél jobban össze legyenek fűzve az egymást követő alfejezetek, paragrafusok és gondolatok, és ezek részletekbe menő leírása ne törje meg a logikai vonalvezetést. Ezért például az eredmények fejezetén belül a

technikai adatokat (az alkalmazott modellt, módszert és statisztikát) csak az ábrafeliratban jelöltem. Az eredmények összekötése az egyes módszerekkel is csak ilyen módon történt meg, ami valóban megnehezítette a Bíráló dolgát, ha a módszertan felől akarta megközelíteni az eredmények értékelését.

Abban igazat adok Professzor asszonynak, hogy célszerűbb lett volna az egyes eredményeket összekötni a publikációkkal, és nem csak fejezetenként megjelölni a felhasznált cikkeket.

A rövidítések száma valóban magas, azonban igyekeztem csak a szakterületre jellemzőket alkalmazni, és azok közül is csak azokat, amelyeket magyar nyelven beszélve is használunk. Feloldásukra a szokásos módon egyszer, az első használatkor került sor minden esetben.

Az egyes fejezetekkel kapcsolatos kritikai megjegyzéseire az alábbiakban válaszolok:

Ami a bevezetésből kihagyott gondolatokat illeti, számomra nehézséget jelentett meghatározni, hogy milyen mélységig vezessek be egy-egy komplex témát a dolgozat elején, és mi az, amire inkább a megbeszélés során térjek ki. Próbáltam arra törekedni, hogy a bevezető rész inkább gondolatébresztő legyen, és a konkrétumokra a diskuszióban reagáljak. Azonban elismerem, hogy ezáltal a célkitűzések és a módszerek részben előkészítetlenül érhetik az olvasót.

A módszertanon belül a Bíráló nem talált kellő mennyiségű információt az immunfluoreszcenciához felhasznált sertés és humán mintákról. A mulasztást ezúton pótolom. A sertés agyakat két vietnámi csüngő hasú, kb. 18 kg-os állatból nyertük. Propofollal történő túlaltatást követően az agyakat kivettük a koponyából, és steril PBS-be helyeztük őket. Az agyhártyák eltávolítása után a szövet egyik részét qPCR, illetve western-blot vizsgálatokra, másik részét immunfluoreszcenciára készítettük elő. Utóbbihoz a kb. 0,2–0,3 cm<sup>3</sup>-es darabokat paraformaldehiddel fixáltuk, majd 2,3 M-os szukrózba helyeztük. A lesüllyedés után a szövetdarabokat mikrotómmal metszettük -40°C-on. A kb. 16 µm vastagságú metszeteket üveg tárgylemezekre húztuk fel. A humán agyi mintákat paraffinos metszetek formájában kaptuk a Szegedi Tudományegyetem Patológiai Intézetéből. A diagnózis felállítását és a mintaelőkészítést is kollaborációs partnereink végezték.

A gyulladásos kaszpázokkal kapcsolatos kérdésre válaszolva, ezek olyan kaszpázok – aszpartát-specifikus cisztein-proteázok, azaz a célfehérjében aszpartát mellett hasító, aktív centrumában ciszteint tartalmazó proteolitikus fehérjék – amelyek nem apoptózis során aktiválódnak, hanem gyulladásos folyamatok során. A gyulladásos kaszpázok közé emberben a kaszpáz-1, -4 és -5 tartozik, míg egérben a kaszpáz-1 és -11. A kaszpáz-1 a kanonikus inflammaszóma aktiváció során aktiválódik, míg a kaszpáz-4/5 (illetve egérben a kaszpáz-11) a nem-kanonikus inflammaszóma útvonal elemei.

Ők az inflammaszómák effektorai, amelyek hasítják a pro-IL-1 $\beta$ -t, a pro-IL-18-at, illetve a pro-gasdermin D-t. Utóbbi a sejtmembránon pórust képezve gyulladásos sejthalált, piroptózist okozhat.

Forrás:

Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease. *Immunity*. 2019 Jun 18;50(6):1352-1364. doi: 10.1016/j.immuni.2019.05.020.

Ami a kannabinoid rendszert illeti, erre valóban kevés hangsúlyt fektettem a dolgozatban. Nemcsak a bevezetésben, de az eredményeknél is épp csak említés szintjén szerepelnek a CB2-vel kapcsolatos kutatásaink, aminek oka, hogy véleményem szerint ez egy kisebb jelentőségű munka volt. Azonban örülök a Bíráló érdeklődésének, így röviden leírom, hogy mit tudunk a kannabinoid rendszer szerepéről az agyi áttétes daganatok kialakulásában.

A növényi eredetű kannabinoidok az endokannabinoidok elsősorban két receptoron, az 1-es és a 2-es típusú kannabinoid-receptoron (a CB1-en és a CB2-n) hatnak. Előbbi közvetíti a pszichoaktív hatásokat, míg utóbbinak főleg a gyulladás csökkentésében van szerepe. Agyi endotélsejteken és melanómasejteken mindkettő expresszióját kimutattuk, mint ahogy más, kannabinoid-hatást közvetítő receptorok, mint a GPR18 és a GPR55 jelenlétét is. Kollaborációs partnerünk eredményei alapján a CB2 aktiválása javítja az agyi endotélsejtek barrier tulajdonságait, és csökkenti a fehérvérsejtek kitapadását az agyi endotéliumhoz gyulladásos körülmények között (Ramirez és mtsai.). *In vitro* modellben vizsgálva kimutattuk, hogy a CB2 aktiválása csökkenti a melanómasejtek átvándorlását az agyi endotélsejtek rétegén leginkább akkor, ha mindkét sejten hat az aktivátor.

Más, agyi metasztázissal kapcsolatos adatot nem találtam, azonban emlőkarcinómában leírták, hogy a CB2 expresszió csökken a metasztatikus sejtekben, és a CB2 agonisták apoptózist okoznak a tumorsejtekben. Általánosan elmondható, hogy a CB2 aktiválása tumorellenes hatású, azonban a tumor mikrokörnyezetében a CB2 gátolhatja a tumorellenes immunválaszt, így indirekt módon pro-tumorigén hatással bírhat.

Források:

Akimov MG, et al. The interaction of the endocannabinoid anandamide and paracannabinoid lysophosphatidylinositol during cell death induction in human breast cancer cells. *Int J Mol Sci*. 2024 Feb 14;25(4):2271. doi: 10.3390/ijms25042271.

Ramirez SH, et al. Activation of cannabinoid receptor 2 attenuates leukocyte-endothelial cell interactions and blood-brain barrier dysfunction under inflammatory conditions. *J Neurosci*. 2012 Mar 21;32(12):4004-16. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4628-11.2012.

Sarsembayeva A, et al. Cannabinoid receptor 2 plays a pro-tumorigenic role in non-small cell lung cancer by limiting anti-tumor activity of CD8+ T and NK cells. *Front Immunol*. 2023 Jan 9;13:997115. doi: 10.3389/fimmu.2022.997115.

Song Q, et al. Overexpression of cannabinoid receptor 2 is associated with human breast cancer proliferation, apoptosis, chemosensitivity and prognosis via the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Cancer Med*. 2023 Jun;12(12):13538-13550. doi: 10.1002/cam4.6037.

Saját publikáció:

Haskó J, et al. CB2 receptor activation inhibits melanoma cell transmigration through the blood-brain barrier. Int J Mol Sci. 2014 May 8;15(5):8063-74. doi: 10.3390/ijms15058063.

*Kérdéseire és megjegyzéseire az alábbiakban szeretnék válaszolni:*

**1, 11.o. A TEER fenntartásában a szoros kapcsoltok fontosak, de nem került megemlítésre, valójában mi hozza létre a membránpotenciál különbséget. Ki tudná ezt részletesebben fejteni?**

Valójában a két fogalom, a TEER és a membránpotenciál, nem ugyanarra a jelenségre vonatkozik.

A klasszikus értelemben vett membránpotenciál-különbség a sejt citoplazmája és az extracelluláris tér közötti feszültség, amelyet a membránban lévő ionpumpák és ioncsatornák határoznak meg. Endotélsejtek esetében a nyugalmi membránpotenciál kb. -40 mV, míg neuronok esetében -70 mV.

Ezzel szemben a TEER, azaz a transzendoteliális (illetve transzepiteliális) elektromos ellenállás, a sejtréteg által elválasztott két kompartmentum között alakul ki akkor, amikor a mérőkészülékkel feszültséget kapcsolunk az apikális és a bazolaterális oldalra helyezett elektródákra. Valójában impedanciát mérünk, hiszen váltakozó áramot használunk.

A TEER a barrierképző sejtrétegeket jellemző fizikai paraméter, amely a sejtek közötti kapcsolatok ionáteresztő képességének függvénye. A szoros kapcsolatok sajátossága, hogy fehérjeösszetételüktől függően szabályozzák az ionok áramlását. Ebben elsősorban a klaudinok első extracelluláris hurkának aminosav-összetétele játszik meghatározó szerepet. A klaudin-5, amely az agyi endotélsejtek legfontosabb transzmembrán *tight junction* fehérjéje, nem a pórusképző, hanem a *sealing* (lezáró, tömítő) típusú klaudinok közé tartozik. Így az agyi endotélsejtek közötti paracelluláris tér szinte teljesen átjárhatatlan az ionok számára, amely elektromos ellenállást határoz meg a sejtréteg apikális és bazolaterális oldalán elhelyezkedő extracelluláris tér között.

Az összipedanciához hozzájárul a membránok ellenállása is, de agyi endotélsejtrétegek esetén, 1 kHz alatt (az általánosan használt mérési körülmények között) ennek értéke elhanyagolható a paracelluláris ellenálláshoz képest. A leggyakrabban használt EVOM<sup>2</sup> voltohmméter esetén 12,5 Hz-et alkalmazunk állandó 10 µA-es áramerősség mellett. A kísérleteink egy részében használt cellZscope készülék széles frekvenciatartományban méri és automatikusan analizálja a jeleket, meghatározva a TEER-t és a kapacitanciát, amely a sejtmembránok összetételétől függ.

A mért rezisztenciát a felületre szoktuk korrigálni, így a sejtréteg specifikus rezisztivitását kapjuk meg, amelynek a gyakorlatban használt mértékegysége  $\Omega \times \text{cm}^2$ .

**Források:**

- Behringer EJ, Segal SS. Membrane potential governs calcium influx into microvascular endothelium: integral role for muscarinic receptor activation. *J Physiol.* 2015 Oct 15;593(20):4531-48. doi: 10.1113/JP271102.
- Benson K, Cramer S, Galla HJ. Impedance-based cell monitoring: barrier properties and beyond. *Fluids Barriers CNS.* 2013 Jan 10;10(1):5. doi: 10.1186/2045-8118-10-5.
- Krause G, et al. Structure and function of claudins. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Mar;1778(3):631-45. doi: 10.1016/j.bbame.2007.10.018.
- Vigh JP, et al. Transendothelial electrical resistance measurement across the blood-brain barrier: A critical review of methods. *Micromachines (Basel).* 2021 Jun 11;12(6):685. doi: 10.3390/mi12060685.
- Wen H, Watry DD, Marcondes MC, Fox HS. Selective decrease in paracellular conductance of tight junctions: role of the first extracellular domain of claudin-5. *Mol Cell Biol.* 2004 Oct;24(19):8408-17. doi: 10.1128/MCB.24.19.8408-8417.2004.
- Yamamoto Y, Imaeda K, Suzuki H. Endothelium-dependent hyperpolarization and intercellular electrical coupling in guinea-pig mesenteric arterioles. *J Physiol.* 1999 Jan 15;514 ( Pt 2)(Pt 2):505-13. doi: 10.1111/j.1469-7793.1999.505ae.x.
- Zihni C, Mills C, Matter K, Balda MS. Tight junctions: from simple barriers to multifunctional molecular gates. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016 Sep;17(9):564-80. doi: 10.1038/nrm.2016.80.

**2, 16. o. "Az asztrociták ... közvetlen kapcsolatokat a végtalpak biztosítják, amelyek szinte teljes mértékben lefedik a vérerek külső felszínét, és szükség esetén gyorsan helyettesítődnek." Kifejtene bővebben, mit érthetünk helyettesítés alatt?**

Az idézett cikkben Mills és mtsai. szelektív asztrocita ablációs kísérleteket írtak le, amelynek során egyedi asztrocitákban indukáltak apoptózist úgy, hogy a Hoechsttel jelölt sejtmagot világították meg egy 775 nm hullámhosszú lézerrel (100 µs/pixel ideig 2,33–53,4 mW intenzitással). A folyamat során reaktív oxigénradikálok keletkeznek, amelyek az asztrocita duzzadásához, a nyúlványok és a végtalpak visszahúzásához, végül a sejt pusztulásához vezetnek.

A folyamat során a periciták nem sérültek, és a vér–agy gát áteresztőképessége nem változott. Azt vették észre, hogy a visszahúzott végtalp helyét kb. két órán belül elfoglalta egy szomszédos asztrocita által kibocsátott nyúlvány.

Hasonló megfigyeléseket tett egy másik kutatócsoport is (Kubotera és mtsai.), akik nem az asztrocita sejtesteket ablálták, hanem csak a végtalpakat. A végtalp-lefedettség nélkül maradt erek megtartották barrier tulajdonságaikat, és az esetek kb. felében egy 50 perctől 5 napig terjedő időszakban új végtalpak foglalták el az elpusztultak helyét.

**Források:**

- Kubotera H, et al. Astrocytic endfeet re-cover blood vessels after removal by laser ablation. *Sci Rep.* 2019 Feb 4;9(1):1263. doi: 10.1038/s41598-018-37419-4.
- Mills WA 3rd, et al. Astrocyte plasticity in mice ensures continued endfoot coverage of cerebral blood vessels following injury and declines with age. *Nat Commun.* 2022 Apr 4;13(1):1794. doi: 10.1038/s41467-022-29475-2.

**3, 1.1.6. A mikroglia térbeli viszonyát is érdekes lenne tudni a vér-agy gáthoz, azok sejtjeihez. Kialakul valamelyikkel közvetlen kapcsolat, vagy szignálmolekulák, diffúzió révén végzik a szabályozást?**

A mikroglia sejtek az idegrendszer fejlődése során a szikzacskóból vándorolnak a neuroepitéliumba, ahol közvetlen kapcsolatokat alakítanak ki az érhálózattal, és szabályozzák az angiogenezist.

Ezzel szemben, felnőttben a mikroglia-sejttestek – a perivaszkuláris makrofágokkal ellentétben, amelyek a nagyobb erek mentén, a perivaszkuláris régióban helyezkednek el – a *glia limitans*-on kívül található. Dénes Ádám csoportjában (Császár és mtsai.) végeztek intenzív kutatásokat arra vonatkozóan, hogy milyen kapcsolatok alakulnak ki a mikroglia sejtek és az agyi erek között. Eredményeik alapján a mikroglia sejtek körbeölelik az érelágazásokat az első-, másod- és harmadrendű kapillárisok szintjén, míg nyúlványaik a teljes érhálózatban közvetlen kapcsolatokat hoznak létre az erekkel, behatolva a *glia limitans* alá. Ezek a kapcsolatok dinamikusán változnak úgy, hogy általában 5–15 percig maradnak fenn, és gyakran ugyanazon a ponton alakulnak ki újra. Érdekes módon, az erekkel kapcsolatba kerülő mikroglia nyúlványok pozitívak a P2Y12R purinerg receptorra, akárcsak a neuronokkal kontaktust kialakító mikroglia nyúlványok. Az erekkel kapcsolatot formáló P2Y12R-pozitív mikroglia nyúlványok ATP-re érzékenyek, és részt vesznek a neurovaszkuláris kapcsolás szabályozásában.

Más tanulmányok is megerősítették, illetve kiegészítették ezeket a megfigyeléseket. Morris és mtsai. igazolták, hogy a mikroglia sejtek kb. 20%-a alakít ki vaszkuláris interakciókat az asztrocita végtalpak közötti 0,01–15  $\mu\text{m}^2$  résekben elsősorban az endotélsejtekhez, kisebb hányadban a pericitákhoz kapcsolódva főként a sejttestjeiken keresztül. Bisht és mtsai. is a mikroglia-sejttestek erekkel való kapcsolatait jellemezték, amelyek szintén a P2Y12R-en keresztül valósulnak meg, és a neurovaszkuláris kapcsolás szabályozásában játszanak szerepet.

A vér–agy gát működését azonban a mikroglia sejtek egészséges körülmények között nem befolyásolják, legalábbis erre utalnak a mikroglia depléciós kísérletek. A vér–agy gát sérülésekor azonban a mikroglia sejtek gyorsan reagálnak, és részt vehetnek a károsodás helyreállításában, bár utóbbira ellenpélda is van (Szalay és mtsai. kutatásaiban).

**Források:**

Arnold T, Betsholtz C. The importance of microglia in the development of the vasculature in the central nervous system. *Vasc Cell.* . 2013 Feb 19;5(1):4. doi: 10.1186/2045-824X-5-4.

Bisht K, et al. Capillary-associated microglia regulate vascular structure and function through PANX1-P2RY12 coupling in mice. *Nat Commun.* 2021 Sep 6;12(1):5289. doi: 10.1038/s41467-021-25590-8.

Choi BR, Johnson KR, Maric D, McGavern DB. Monocyte-derived IL-6 programs microglia to rebuild damaged brain vasculature. *Nat Immunol.* 2023 Jul;24(7):1110-1123. doi: 10.1038/s41590-023-01521-1.

Császár E, et al. Microglia modulate blood flow, neurovascular coupling, and hypoperfusion via purinergic actions. *J Exp Med*. 2022 Mar 7;219(3):e20211071. doi: 10.1084/jem.20211071.

Lou N, et al. Purinergic receptor P2RY12-dependent microglial closure of the injured blood-brain barrier. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Jan 26;113(4):1074-9. doi: 10.1073/pnas.1520398113.

Morris GP, Foster CG, Sutherland BA, Grubb S. Microglia contact cerebral vasculature through gaps between astrocyte endfeet. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2024 Dec;44(12):1472-1486. doi: 10.1177/0271678X241280775.

Profaci CP, et al. Microglia are not necessary for maintenance of blood-brain barrier properties in health, but PLX5622 alters brain endothelial cholesterol metabolism. *Neuron*. 2024 Sep 4;112(17):2910-2921.e7. doi: 10.1016/j.neuron.2024.07.015.

Szalay G, et al. Microglia protect against brain injury and their selective elimination dysregulates neuronal network activity after stroke. *Nat Commun*. 2016 May 3;7:11499. doi: 10.1038/ncomms11499.

#### **4, 17.o. Nagyon népszerű a neurológiai betegségek immunelmélete. Mi alapján lehet kijelenteni, hogy az agyban steril gyulladás van? Mi indukálja, hol kezdődik és mennyire terjed ki ez a gyulladás?**

A steril gyulladás az agyban a szöveti károsodás és sejtpusztulás miatt felszabaduló úgynevezett DAMP-ok hatására alakul ki, amelyek a sérülésasszociált molekuláris mintázatokat (*damage-associated molecular patterns*) jelentik. Ezek közé tartozik például az extracelluláris ATP, a DNS-kötő HMGB1 (nagy mobilitású csoport box 1, *high-mobility group box 1*) fehérje, a szabad DNS vagy RNS, a reaktív oxigéngyökök, a  $\beta$ -amiloid fibrillumok, számos hősokkfehérje és gyulladásos citokin is.

Ezek aktiválják a mintázatfelismerő receptorokat, a PRR-eket (*pattern recognition receptors*), amelyek gyulladásos citokinek termelését indukálják. Ez utóbbiak maguk is aktiválhatják a PRR-eket, így egy ördögi kör jöhet létre, és a gyulladás krónikussá válhat, ami további szövetpusztulást, neurodegenerációt okozhat.

A steril neuroinflammációt tehát a proinflammatorikus citokinek jelenléte jelzi, valamint a mikroglia és az asztrociták aktiválódása, illetve a fehérvérsejtek bevándorlása az agyba. Ehhez társul a vér-agy gát permeabilitásának növekedése. A gyulladás kiterjedése nagy mértékben függ a kezdeti léziótól, illetve a gyulladásos reakció mértékétől és elhúzódásától.

#### **Források:**

Serna-Rodríguez MF, Bernal-Vega S, de la Barquera JAO, Camacho-Morales A, Pérez-Maya AA. The role of damage associated molecular pattern molecules (DAMPs) and permeability of the blood-brain barrier in depression and neuroinflammation. *J Neuroimmunol*. 2022 Oct 15;371:577951. doi: 10.1016/j.jneuroim.2022.577951.

Simon DW, et al. The far-reaching scope of neuroinflammation after traumatic brain injury. *Nat Rev Neurol*. 2017 Mar;13(3):171-191. doi: 10.1038/nrneurol.2017.13.

## 5, 23. o. Mit értett a jelölt piroptózis alatt?

A piroptózis gyulladásos eredetű programozott sejthalált jelent. Effektorai a gasderminek, elsősorban a gasdermin D (GSDMD). Ezeket elsősorban az inflammaszóma-függő módon aktivált gyulladásos kaszpázok hasítják egy C- és egy N-terminális darabra. Az N-GSDMD ~20 nm belső átmérőjű pórusokat képez a sejtmembránon, amelyen keresztül az IL-1 $\beta$  mellett ionok jutnak át. Ez sejtduzzadáshoz vezet, amelynek következtében károsodik a plazmamembrán. Ehhez a folyamathoz a NINJ1 fehérje oligomerizációja szükséges. Végül a sejt pusztulása során laktát-dehidrogenáz és DAMP-ok szabadulnak fel.

A dolgozatban ez a folyamat csak említés szintjén kerül bemutatásra, mivel kísérleteinkben sem az endotélszövetekben, sem a pericitákban nem aktiválódott ez az útvonal az inflammaszómák összeszerelődése kapcsán.

### Források:

Dai Z, et al. Gasdermin D-mediated pyroptosis: mechanisms, diseases, and inhibitors. *Front Immunol.* 2023 May 18;14:1178662. doi: 10.3389/fimmu.2023.1178662.

Kayagaki N, et al. NINJ1 mediates plasma membrane rupture during lytic cell death. *Nature.* 2021 Mar;591(7848):131-136. doi: 10.1038/s41586-021-03218-7.

Yu P, Zhang X, Liu N, Tang L, Peng C, Chen X. Pyroptosis: mechanisms and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Mar 29;6(1):128. doi: 10.1038/s41392-021-00507-5.

## 6, 26.o. Elhiszem, hogy az inflammaszómák hozzájárulhatnak az öregedéshez, de mi lehet ennek a mechanizmusa, lépései?

Az öregedés egyik fémjele a szenesczens sejtek felszaporodása, amelyek gyulladásos szekretoros fenotípust vesznek fel, amit a SASP (*senescence-associated secretory phenotype*) rövidítés jelez. A felszabaduló gyulladásos mediátorok DAMP-ként szolgálnak a mintázatfelismerő receptorok számára, amelyek az inflammaszómák aktiválását indukálhatják. Tehát az öregedés egy lassú, krónikus gyulladásos folyamatként is felfogható.

Az agyi sejtek szenescenciája a neurodegeneratív megbetegedések és a kognitív hanyatlás egyik fő kockázati tényezője. Elsősorban a gliasejtek és a neuronok lehetnek érintettek, de a vaszkuláris sejtek is, és a szenolitikus terápiás szerek egyre inkább előtérbe kerülnek a neurodegeneráció csökkentésében. Saját kutatásaink azt is igazolták, hogy a szenolízis elősegítheti az endoteliális prekursor sejtek beépülését az agyi kapillárisokba, amely az erek „megfiatalítását” okozhatja (Lam és mtsai).

Hasonlóképpen az NLRP3 inflammaszóma gátlása is potenciális jövőbeli terápiás eljárásnak merült fel öregedéshez köthető megbetegedésekben.

**Források:**

Liang R, et al. The role of NLRP3 inflammasome in aging and age-related diseases. *Immun Ageing*. 2024 Feb 5;21(1):14. doi: 10.1186/s12979-023-00395-z.

López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013 Jun 6;153(6):1194-217. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039.

Maran JJ, Adesina MM, Green CR, Kwakowsky A, Mugisho OO. The central role of the NLRP3 inflammasome pathway in the pathogenesis of age-related diseases in the eye and the brain. *Ageing Res Rev*. 2023 Jul;88:101954. doi: 10.1016/j.arr.2023.101954.

Yuan Z, et al. Research progress of NLRP3 inflammasome and its inhibitors with aging diseases. *Eur J Pharmacol*. 2023 Oct 15;957:175931. doi: 10.1016/j.ejphar.2023.175931.

**Saját publikáció (amely a doktori dolgozatban nem szerepel):**

Lam TD, Tóth I, Hermenean A, Wilhelm I, Kieda C, Krizbai I, Farkas AE. Senolysis potentiates endothelial progenitor cell adhesion to and integration into the brain vasculature. *Stem Cell Res Ther*. 2024 Nov 11;15(1):413. doi: 10.1186/s13287-024-04042-2.

**7, 50.o. A fehér és szürkeállomány vér-agy gátjának összehasonlítása érdekes kérdés. Ugyanakkor ezt sertésagyból származó sejtenyészeten vizsgálták (bár nagyon dicséretesen egy humán adatbankkal is össze lettek hasonlítva az eredmények). Mi indokolta sertések használatát? Mennyi ideig voltak tenyésztve és pontosan milyen sejteken (a módszereknél számos sejttípus került megnevezésre) került sor a nevezett kapcsolódó fehérjék vizsgálatára? Nem lehetséges, hogy a sejtenyészeti létrehozása során az emésztési lépések a vizsgált molekulákra is jelentős hatással vannak? Szerintem célszerűbb lett volna frissen lefagyasztani fehér és szürkeállományt (pontosan melyik agyterület fehér és szürkeállományáról van szó? ez se biztos, hogy teljesen mindegy) és azt vizsgálni PCR-rel és Western blot-tal (sajnos az eredmények leírásból is csak találgatni lehet, mi volt a módszer, amivel mérték a mintákat).**

A vér-agy gát regionális heterogenitásának vizsgálata során két okból választottuk a sertést az agyi endotélsejtek izolálására. Egyrészt mérete miatt, hiszen a rágcsálókhoz viszonyítva könnyű volt megfelelő mennyiségű szövetet nyerni a különböző agyterületekből. Másrészt a sertés az emberhez hasonlóan mindenevő, ami előrevetíti a transzporterek hasonlóságát, amelyekre ugyan nem fektettünk különös hangsúlyt a vizsgálatainkban, de mindenképp a vér-agy gát fontos elemei.

A vér-agy gátat az agyi endotélsejtek alkotják. Pericitákkal és asztrocitákkal azért szoktuk együtt tenyésztetni őket, hogy barrier tulajdonságaik – például a jól fejlett, folyamatos szoros kapcsolataik – megmaradjanak, hiszen azok nem intrinszik jellemzői az agyi endotélsejteknek, hanem az agyi környezet hatására alakulnak ki.

Természetesen az agyi endotélsejtek izolálása során a sejt-sejt kapcsolatok jórészt felbomlanak, de ezek a tenyésztés során újra kialakulnak és fennmaradnak. A sejtek izolálására és tiszta (más sejttípusoktól mentes) kultúrák létrehozására mindenképp szükség volt, hiszen egyrészt más sejtek is expresszálják a junkcionális fehérjéket (bár jóval kisebb mennyiségben), másrészt a TEER mérése

másképp nem lett volna lehetséges. A junkcionális fehérjék expresszióját és lokalizációját természetesen nemcsak sejtenyészeteken, hanem agyszöveteken is vizsgáltuk.

Fontos kérdés, hogy pontosan milyen agyterületeket vizsgáltunk. A fehérállomány tekintetében kísérleteinkben csak a *corpus callosum*-ot vizsgáltuk meg, míg más régiókat, mint a *capsula interna* és *externa*, valamint a periventrikuláris és szubkortikális fehérállomány, nem tanulmányoztuk. A szürkeállomány a frontális és parietális kérget jelentette.

Ami a sertés agyi endotélsejtek tenyésztési idejét illeti, az izolálás során érfragmentumokat kaptunk, amelyeket kollegénnel és fibronektinnel bevont tenyésztőcsészákra helyeztünk. Ezekből a kapilláris darabokból vándoroltak ki az endotélsejtek, és indultak szaporodásnak. Az első három napon a kontamináló sejtek eltávolítására a tenyészetbe puromicint adtunk, amely toxikus a sejtekre, azonban szubsztrátja a P-gp efflux transzporternek, amely csak endotélsejteken expresszálódik. A puromicin eltávolítása után a tenyészetek gyors szaporodásnak indultak, és 1–2 nap alatt konfluenssé váltak. Ekkor lefagyasztottuk őket a szokásos módszerrel. Kísérlet előtt a sejteket a megfelelő tenyésztőfelületekre szélesztettük. Ahogy a TEER mérések mutatják, 24 óra alatt érett junkciókkal rendelkező endotélsejteket kaptunk.

### **8, 57.o. A PRR-ek humán vizsgálata sejtenyészeteken történt. Kitérne a módszer limitációira? (pl. immortalizált, tumoros sejtek voltak-e a kiindulási tenyészetben)**

Nagyon köszönöm ezt a fontos kérdést. Kísérleteinkhez hCMEC/D3 (rövidítve D3) humán agyi endotélsejteket, illetve HBVP (humán agyi vaszkuláris pericita, *human brain vascular pericyte*) sejteket használtunk.

A D3 sejteket egy, epilepszia miatt műtött beteg egészséges agyszövetéből izolált endotélsejtekből nyerték immortalizálás után. Az immortalizálás a sejtek lentivirális transzdukciójával történt hTERT (humán telomeráz reverz transzkriptáz) és SV40 (*Simian virus 40*) nagy T-antigén felhasználásával. Előbbi a telomerek rövidülését, és ezáltal a szenescencia kialakulását akadályozza meg. Utóbbi pedig blokkolja az apoptózist beindító p53 tumorellenes sejtfehérjét. Kísérleteinkben a D3 sejteket P30-P40 közötti passzázsszámnál használtuk.

A D3 sejtvonalat az elmúlt 20 évben több mint 100 tanulmányban használták fel a vér–agy gát különböző aspektusainak vizsgálatára, azonban a gyakorlati tapasztalatok szerint a szoros kapcsolataik fejlettsége alulmarad a primér endotélsejtekéhez képest. Egyéb barrier tulajdonságaikat megtartották, és nagy előnyük, hogy emberi eredetűek.

A HBVP sejtek kereskedelmi forgalomban kapható, nem immortalizált sejtek, amelyeket az izolálást követő első passzálás után fagyasztanak. Mi és P2-P4 közötti passzázsszámnál használtuk őket. Az alacsony passzázsszám és a rövid ideig tartó tenyésztés azért is fontos, mert a periciták tenyészetben

gyakran differenciálódásnak indulnak. Ráadásul a különböző altípusok sem jelennek meg olyan formában, mint az élő szervezetben.

A HBVP sejtek izolálásáról és minőségellenőrzéséről nem sokat tudunk, ráadásul az egyes gyártási tételek közötti variabilitás sem kizárható. Azonban a vér–agy gát közösség tagjai gyakran használják őket, így viszonylag jól karakterizáltak. További előnyük az emberi eredet.

Mindezen adatok jelzik, hogy – mint minden modell – ezek a sejtek is rendelkeznek úgy előnyökkel, mint hátrányokkal. Így az eredményeket ennek tudatában kell értelmezni, és lehetőség szerint más modellekben kapott adatokkal összevetni.

#### Források:

Brown LS, et al. Brain pericytes in culture display diverse morphological and functional phenotypes. *Cell Biol Toxicol.* 2023 Dec;39(6):2999-3014. doi: 10.1007/s10565-023-09814-9.

Wekesler BB, et al. Blood-brain barrier-specific properties of a human adult brain endothelial cell line. *FASEB J.* 2005 Nov;19(13):1872-4. doi: 10.1096/fj.04-3458fje.

Weksler B, Romero IA, Couraud PO. The hCMEC/D3 cell line as a model of the human blood brain barrier. *Fluids Barriers CNS.* 2013 Mar 26;10(1):16. doi: 10.1186/2045-8118-10-16.

### **9, A PCR vizsgálatok során az expressziót a GAPDH-hoz hasonlították. Tudna példát mondani a GAPDH változásra, amikor ez nem tekinthető igazán jó „kontrollnak”? (manapság 2-3 „housekeeping” gén használata javasolt). Mi lehetne alternatíva?**

Kísérleteinkben a leggyakrabban mi is több háztartási gént szoktunk kontrollként alkalmazni – általában kettőt az alábbiakból: az RPLP0 riboszomális fehérje génje, a HPRT1 hipoxantin ribozil-transzferáz gén, a 18S riboszomális RNS génje és az ACTB, a  $\beta$ -aktin génje, valamint a GAPDH. Ezeknek megválasztása függ az adott kísérlettől, hiszen olyan gént kell használnunk, amelynek expressziója várhatóan nem változik az adott körülmények között.

A GAPDH (*glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase*, gliceraldehyd 3-foszfát dehidrogenáz) tapasztalataink szerint a legtöbb általunk alkalmazott kísérleti felállásban jól használható, azonban fontos tudni, hogy egy olyan enzimről van szó, amely szerepet játszik a glikolízisben, így metabolikus folyamatok vizsgálata során nem ideális háztartási géneként alkalmazni. Ugyanakkor a metabolizmustól független szerepei is ismertek, amelyek jórészt a sejthalálhoz és a tumorsejtek túléléséhez köthetők (Zhang és mtsai.).

Mivel a GAPDH szabályozása részben transzkripciós szinten történik, szükséges lehet alternatív referencia gének használatára, esetleg a minták teljes RNS-tartalmára normalizálni az egyes gének expressziós változását (Bustin és mtsai.). A legprecízebbnek és a leginvariábilisabbnak a 18S RNS tűnik, de a GAPDH is biztonsággal használható a legtöbb esetben (Kuchipudi és mtsai.). Azonban

érdekes több háztartási gént is kipróbálni a normalizáláshoz főleg, amíg meg nem győződünk arról, hogy az adott kísérleti felállásban van egy ideálisnak tekinthető referencia gén.

Források:

Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. J Mol Endocrinol. 2002 Aug;29(1):23-39. doi: 10.1677/jme.0.0290023.

Kuchipudi SV, et al. 18S rRNA is a reliable normalisation gene for real time PCR based on influenza virus infected cells. Virol J. 2012 Oct 8;9:230. doi: 10.1186/1743-422X-9-230.

Zhang JY, et al. Critical protein GAPDH and its regulatory mechanisms in cancer cells. Cancer Biol Med. 2015 Mar;12(1):10-22. doi: 10.7497/j.issn.2095-3941.2014.0019.

### **10, 80.o. Mit lehet tudni a kannabinoid rendszer és a tumorképződés kapcsolatáról? Van általában a CB2 receptornak szerepe a sejtmigrációban fiziológián?**

Erre a kérdésre az előzőekben (a 3. oldalon) már túlnyomórészt válaszoltam. A korábban leírtakat annyival egészítem ki, hogy a CB2-nek az immunsejtek és a tumorsejtek migrációjában van – jellemzően szupresszív – szerepe. Azonban a hatás nagymértékben függ a sejtípustól és a ligandtól is.

Források:

AlSalamat HA, et al. Cannabis and cancer: unveiling the potential of a green ally in breast, colorectal, and prostate cancer. J Cannabis Res. 2024 May 16;6(1):24. doi: 10.1186/s42238-024-00233-z.

Glogauer J, Blay J. Cannabinoids, their cellular receptors, and effects on the invasive phenotype of carcinoma and metastasis. Cancer Rep (Hoboken). 2022 Feb;5(2):e1475. doi: 10.1002/cnr2.1475.

Miller AM, Stella N. CB2 receptor-mediated migration of immune cells: it can go either way. Br J Pharmacol. 2008 Jan;153(2):299-308. doi: 10.1038/sj.bjp.0707523.

### **11, 85.o. Mi a szerepe az IGF2-nek a tumorképződésben általában (mechanizmus?)? Hogy arányul ez az inzulin, vagy a GH/IGF1 szerepéhez?**

Az IGF-rendszer több ligandot (az inzulint, az IGF1-et és IGF2-t), több receptort és kötő, valamint szabályozó fehérjét tartalmaz, amelyeknek elsősorban a növekedésben és a metabolizmusban van szerepe. Az IGF1-et elsősorban a máj termeli, és a növekedési hormon szabályozása alatt áll, míg a keringő IGF2 mennyisége jelentősen csökken születés után, és inkább lokális hatásai vannak, például az agyban. Bár az inzulin receptorokon is képesek hatást kifejteni, mindkettő fő jelátviteli receptora az IGF-1R, amelyhez viszont az inzulin kevésbé tud kötni.

Az IGF-1R egy receptor-tirozinkináz, amely az egyik legintenzívebben kutatott onkológiai célmolekula. Potenciális inhibitoraival számos klinikai tanulmány zajlott le, azonban egyetlen gyógyszerjelöltet sem engedélyeztek egyelőre antitumorális szerként. Ennek oka, hogy az IGF-1R jelátvitel egy komplex

szignalizációs hálózat része, amelyben más növekedési faktor receptorok és integrinek is részt vesznek, így a sejtek számos pontban tudnak kompenzálni és rezisztenciát kialakítani. Ráadásul az IGF-1R aktiválása a tumorsejtekben gyakran másodlagosan alakul ki a tumorszupresszor molekulák okozta gátlás csökkenése után. Másrészt, mivel a receptorra nem jellemzőek az aktiváló mutációk, a gátlószerek az egészséges sejtek működését befolyásolva mellékhatásokat okozhatnak.

Megjegyzendő, hogy a kísérleteinkben használt AXL1717/PPP is csak a fázis II-ig jutott tüdőrákban és asztrocitómában tesztelve.

Az inzulin is fontos szereppel bír a tumorképződésben. A magas keringő inzulinszint az elhízás, a diabétesz és a rákos megbetegedések közös eleme. Ráadásul az inzulintermelés és -szignalizáció is komplex szabályozás alá esik, és számos ponton kapcsolódik a tumorsejtekben aktív jelátviteli utakkal, többek között az IGF vagy a PI3K szignalizációval. Ennek fontos terápiás következményei vannak.

**Források:**

Gallagher EJ, LeRoith D. Hyperinsulinaemia in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2020 Nov;20(11):629-644. doi: 10.1038/s41568-020-0295-5.

Mancarella C, Morrión A, Scotlandi K. Extracellular interactors of the IGF system: Impact on cancer hallmarks and therapeutic approaches. *Int J Mol Sci*. 2024 May 29;25(11):5915. doi: 10.3390/ijms25115915.

Osher E, Macaulay VM. Therapeutic targeting of the IGF axis. *Cells*. 2019 Aug 14;8(8):895. doi: 10.3390/cells8080895.

Peng Y, Tan J. The relationship between IGF pathway and acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2023 Aug 11;28(8):163. doi: 10.31083/j.fbl2808163.

Soni UK, Jenny L, Hegde RS. IGF-1R targeting in cancer - does sub-cellular localization matter? *J Exp Clin Cancer Res*. 2023 Oct 20;42(1):273. doi: 10.1186/s13046-023-02850-7.

Werner H. Tumor suppressors govern insulin-like growth factor signaling pathways: implications in metabolism and cancer. *Oncogene*. 2012 May 31;31(22):2703-14. doi: 10.1038/ncr.2011.447.

**12, 97.o. A jelen dolgozatban az inflammaszómák funkcionális jelenlétét elsősorban IL1 $\beta$  termelés növekedésével követték. Ez mennyire általános? Mivel a vaszkuláris elemekben az IL1 $\beta$  emelkedés töredéke az egyéb agyi sejtekben létrejött aktivációnak, feltehetjük-e, hogy ez inkább parakrin szerepű? Lehet-e inflammaszóma aktiváció ezen citokin emelkedésének hiányában, illetve milyen más anyagok vizsgálata, milyen módszerekkel jöhetne szóba?**

Az aktív IL-1 $\beta$  termelését jellemzően az inflammaszóma aktiváció markerének tekintik, hiszen ez a leggyakoribb formája az IL-1 $\beta$  érének. Mivel azonban létezik inflammaszóma-független IL-1 $\beta$  termelés is, az inflammaszóma-összeszerelődés legspecifikusabb jelének az ASC-*speck* (ASC-szemcse) kialakulását tekintik. Ezt azonban nehéz kimutatni, mi is ritkán láttuk. Ennek egyik oka az lehet, hogy mi az inflammaszómákat nem immunsejtekben vizsgáltuk, amelyeknek elsődleges funkciója a gyulladás szabályozása, hanem vaszkuláris sejtekben, amelyek inkább csak modulálják a folyamatot.

Másrészt, Nagar és mtsai. kutatásai alapján, inflammaszóma összeszerelődés *speck*képződés nélkül is létrejöhet. Mindezek fényében az IL-1 $\beta$  aktív formájának kimutatása egy jó specificitással és szenzitivitással bíró, de nem tökéletes jele az inflammaszóma aktivációnak.

IL-1 $\beta$ -szekréció nélküli valódi inflammaszóma aktivációról nem találtam adatot az irodalomban, azonban a piroptózis és a citokintermelés nem zajlik mindig kapcsolt módon, és egyik vagy másik dominánssá válhat a stimulustól, a sejttípustól és egyéb körülményektől függően. Gyakoribb eset, hogy citokintermelés domináljon úgy, hogy a sejthalál nem vagy alig mutatható ki. Agyi endotélsejtek és periciták esetén is ezt láttuk. A piroptózis dominanciája és a kaszpáz hasításának, valamint az IL-1 $\beta$  éréseinek elmaradása jellemzően ASC hiányában alakul ki.

Módszertanilag az említetteken kívül a hasított kaszpáz-1 detektálása alkalmazható *western*-blottal.

A vaszkuláris sejtek által termelt IL-1 $\beta$  parakrin hatását mi magunk (Kozma és mtsai.) is kimutattuk, és elsődleges szerepűnek gondoljuk az idegrendszer és a periféria közötti kommunikációban gyulladásos körülmények között.

#### Források:

Broz P, von Moltke J, Jones JW, Vance RE, Monack DM. Differential requirement for Caspase-1 autoproteolysis in pathogen-induced cell death and cytokine processing. *Cell Host Microbe*. 2010 Dec 16;8(6):471-83. doi: 10.1016/j.chom.2010.11.007.

Li Y, Liang Q. Uncoupled pyroptosis and IL-1 $\beta$  secretion downstream of inflammasome signaling. *Front Immunol*. 2023 Apr 6;14:1128358. doi: 10.3389/fimmu.2023.1128358.

Nagar A, Rahman T, Harton JA. The ASC speck and NLRP3 inflammasome function are spatially and temporally distinct. *Front Immunol*. 2021 Oct 21;12:752482. doi: 10.3389/fimmu.2021.752482.

Netea MG, van de Veerdonk FL, van der Meer JW, Dinarello CA, Joosten LA. Inflammasome-independent regulation of IL-1-family cytokines. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:49-77. doi: 10.1146/annurev-immunol-032414-112306.

#### Saját publikáció:

Kozma M, et al. Cerebral pericytes and endothelial cells communicate through inflammasome-dependent signals. *Int J Mol Sci*. 2021 Jun 6;22(11):6122. doi: 10.3390/ijms22116122.

### **13, A dolgozatban felvetett számos biomarker és terápiás célpont közül valamelyik, vagy hasonló mechanizmusú anyag klinikai vizsgálatra került-e már.**

Nagyon köszönöm ezt a kérdést, amelynek révén kihangsúlyozhatom az alapkutatások kapcsolatát a klinikummal.

Biomarkerek tekintetében a szérumból kimutatható miRNS-eket említettem a dolgozatban, amelyek különböző tumorok korai detektálásában lehetnek hasznosak a jövőben. Bár ezek a vizsgálatok még nem képezik a klinikai gyakorlat részét, az eredmények biztatók, hiszen bizonyos miRNS-ek

expressziója jelentős különbségeket mutat a rákos és az egészséges emberek vérében (Metcalf és mtsai.).

A dolgozatomban számos onkoterápiás célpont került említésre, amelyeknek gátlószerei klinikai alkalmazásban vagy klinikai kipróbálás alatt állnak. Az IGF-1R ellenes szerek, ahogy a korábbiakban (a 11. kérdésre adott válaszomban) már említettem, egyelőre nem kerültek bevezetésre a daganatterápiában.

A PI3K/Akt/PTEN egy alapvető fontosságú túlélési útvonal a tumorsejtek számára, míg kísérleteinkből az derült ki, hogy a metasztatikus sejtek vér–agy gáton való átvándorlásában is szerepet játszik. Gátlószerei közül jelenleg több mint 60 gyógyszerjelölt vizsgálata zajlik, és öt került engedélyezésre, négy limfómában és/vagy limfocitás leukémiában, egy pedig áttétes emlőrákban (Li és mtsai.).

A kannabinoidok tekintetében egy fázis II tanulmányt találtam, amelyben a *sativex*, kannabisz növényi kivonatot tartalmazó szájspray glioblasztómára kifejtett hatását vizsgálják *temozolomiddal* kombinációban (Bhaskaran és mtsai.). Ugyanakkor a *nabiximols/sativex* már több országban engedélyezett *sclerosis multiplex* kezelésére.

A nefronektin kapcsán az integrinek is említésre kerültek a dolgozatban, hiszen a metasztatikus emlőkarcinóma-sejtek által termelt extracelluláris mátrix fehérje az  $\alpha 8 \beta 1$ -integrinhez kapcsolódva segíti elő a tumorsejtek vér–agy gáton való átvándorlását. Az integrin család számos tagja tartozik a terápiás targetek közé nemcsak onkológiai, de számos más betegségben is (Slack és mtsai.). A kifejlesztett terápiás szerek közül több is eljutott a klinikai vizsgálatokig, illetve vannak közöttük engedélyezett gyógyszermolekulák is, például a szintén a *sclerosis multiplex* kezelésére használt *natalizumab*.

Külön kiemelném az NLRP3 inflammaszóma-gátlószereket, amelyeknek fejlesztése nagy erővel folyik (Chen és mtsai.). Elsősorban autoimmun és gyulladásos betegségekben tesztelik őket, és jelenleg két készítmény van forgalomban, a *canakinumab/ilaris* és a *rilonacept/arcalyst*. Más patológias folyamatokban is zajlanak a vizsgálatok, például Parkinson-kórban, illetve különböző típusú tumorokban is. Érdekességgént megemlítem, hogy a tanulmányunk (Mészáros és mtsai.) publikálása után a *ZyVersa Therapeutics, Inc.* klinikai gyógyszerfejlesztő vállalat a honlapján hírként jelentette meg, hogy leírtuk a kapcsolatot az inflammaszóma aktiváció és az agyi áttétes daganatok között.

Szintén az IL-1 jelátvitelt gátolja az *anakinra/kineret*, amely egy IL-1R antagonist, és amelyet a reumatoid artritisz terápiájában alkalmaznak, valamint számos klinikai vizsgálatba vonták be.

Végül egy olyan szert is megemlítenék, a *fasudilt* – amely egy, Japánban és Kínában engedélyezett gyógyszer érszűkület kezelésére –, amely eredményeink szerint növelheti az agyi áttétek kialakulásának kockázatát.

**Források:**

Bhaskaran D, et al. A randomised phase II trial of temozolomide with or without cannabinoids in patients with recurrent glioblastoma (ARISTOCRAT): protocol for a multi-centre, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC Cancer*. 2024 Jan 15;24(1):83. doi: 10.1186/s12885-023-11792-4.

Chen QL, Yin HR, He QY, Wang Y. Targeting the NLRP3 inflammasome as new therapeutic avenue for inflammatory bowel disease. *Biomed Pharmacother*. 2021 Jun;138:111442. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111442.

Li H, et al. Targeting PI3K family with small-molecule inhibitors in cancer therapy: current clinical status and future directions. *Mol Cancer*. 2024 Aug 10;23(1):164. doi: 10.1186/s12943-024-02072-1.

Metcalf GAD. MicroRNAs: circulating biomarkers for the early detection of imperceptible cancers via biosensor and machine-learning advances. *Oncogene*. 2024 Jul;43(28):2135-2142. doi: 10.1038/s41388-024-03076-3.

Slack RJ, Macdonald SJF, Roper JA, Jenkins RG, Hatley RJD. Emerging therapeutic opportunities for integrin inhibitors. *Nat Rev Drug Discov*. 2022 Jan;21(1):60-78. doi: 10.1038/s41573-021-00284-4.

**Saját publikáció:**

Mészáros Á, et al. Inflammasome activation in peritumoral astrocytes is a key player in breast cancer brain metastasis development. *Acta Neuropathol Commun*. 2023 Sep 25;11(1):155. doi: 10.1186/s40478-023-01646-2.

Végezetül szeretném ismét megköszönni Professzor asszonynak a pozitív bírálatot.

Szeged, 2025. április 1.



Dr. Wilhelm Imola