

TKP2021-EGA-28 TÉMATERÜLETI KUTATÁSI PROGRAM EREDMÉNYEI TRANSZLÁCIÓS BIOMEDICINA



NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI
ÉS INNOVÁCIÓS HIVATAL

AZ NKFI ALAPBÓL
MEGVALÓSULÓ PROGRAM

SZERKESZTŐ:

DR. MALÉTH JÓZSEF

SZERZŐK:

DR BERÉNYI ANTAL

DR FARKAS ESZTER

DR GÁCSEK ATTILA

DR KELLER-PINTÉR ANIKÓ

DR KEMÉNY LAJOS

DR MALÉTH JÓZSEF

DR PAPP TAMÁS

DR SZÉLL MÁRTA

DR TAMÁS GÁBOR

KIADÓ: SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM, 6720 SZEGED, DUGONICS TÉR 13.

KÉSZÜLT 100 PÉLDÁNYBAN

INNOVARIANT NYOMDAIPARI KFT., ALGYÓ

ISBN SZÁM: ISBN 978-963-688-098-9

KIADÁS ÉVE: 2025

1. SZAKMAI VEZETŐI ÖSSZEFOGLALÓ

A “Transzlációs Biomedicina” projekt átfogó célja, hogy új modellrendszereket dolgozzon ki a gyulladásos, degeneratív és neurológiai betegségek vizsgálatára, ezek révén személyre szabott terápiás lehetőségeket fejlesszen, valamint növelje a hazai kutatások nemzetközi szintű versenyképességét. E betegségek – például egyes krónikus bőrgyulladások (mint a psoriasis) és gyulladásos bélbetegségek – jelentős társadalmi-gazdasági terhet rónak a lakosságra és emberek százmillióinak életminőségét rontják. Hasonlóképpen, a neurológiai rendellenességek a modern orvostudomány nagy kihívásai közé tartoznak; ezen kórképek alapfolyamatainak jobb megértése és modellezése kulcsfontosságú a hatékony beavatkozások kidolgozásához. A projekt tudományos jelentőségét jelzi, hogy célkitűzései a betegségek patomechanizmusainak feltárására és új terápiás támadáspontok azonosítására irányulnak, míg társadalmi hasznosságát az adja, hogy eredményei várhatóan a betegek jobb ellátásához és életminőségének javításához vezetnek.

A projekt megvalósítása alapvető szemléletváltást igényelt a biomedicinális kutatások terén. A hagyományos megközelítés tipikusan szórványos mintavételezésen és szűk fókuszú, egyedi hipotéziseken alapult, ami korlátozott hasznosulást eredményezett. Ezzel szemben a program egy új koncepciót vezetett be, amely a műszaki és anyagtudományi területek bevonásával drasztikusan növeli a vizsgálatok áteresztőképességét és léptékét – immár egyedi molekulák vagy sejtek helyett egyszerre akár több ezer paraméter vizsgálható. E multidiszciplináris együttműködésben biológusok, mérnökök, informatikusok, orvoskutatók és klinikusok dolgoznak szoros szinergiában. Ez az integrált kutatási modell erősíti a projekt transzlációs (gyakorlatba átültető) profilját, és biztosítja, hogy az új tudományos eredmények gyorsan a gyakorlati orvoslásban hasznosulhassanak.

A projekt során a szinergiák hatékony kiaknázása révén több kutatócsoport számára tudtunk hozzáférést biztosítani a legkorszerűbb technológiákhoz, kiküszöbölve a párhuzamos eszközbeszerzések redundanciáját. Az erőforrások megosztása és az olyan kapacitások optimális kihasználása, mint az állatház és a fejlett mikroszkópos rendszerek, jelentős költségmegtakarítást eredményezett, miközben elősegítette a know-how megosztását és a hatékonyabb kutatómunkát. Az infrastrukturális háttér hozzájárult ahhoz is, hogy a projekt keretében növekedjen a fiatal kutatók (pl. PhD-hallgatók) bevonása, és ugrásszerűen javuljon a publikációs teljesítmény, az elmúlt időszakban közel 80 tudományos közlemény született, melyek több mint fele a legmagasabb besorolású nemzetközi folyóiratokban jelent meg. Mindezek az eredmények nemcsak a tudományos kiválóságot mutatják, hanem közvetlenül hozzájárulnak az SZTE és általában a hazai biomedicinális kutatások nemzetközi versenyképességének

növeléséhez. A program végső soron olyan innovatív, személyre szabott molekuláris és sejterápiás eljárások, valamint új orvostechnikai eszközök kifejlesztését alapozza meg, amelyek hosszú távon a betegek javát és a gazdasági hasznosulást szolgálják.

Prof. Dr. Kemény Lajos, A Transzlációs Biomedicina tématerületi kutatás szakmai vezetője

2. PROJEKT ADATOK

A projekt címe:

Transzlációs biomedicina

A projekt azonosító száma:

TKP2021-EGA-28

A projekt megvalósítás időszaka:

2022.01.01. - 2025.12.31.

A szerződött támogatás összege:

1 000 000 000 Ft

Szakmai vezető:

Prof. Dr. Kemény Lajos

Projektmenedzser:

Zsigmond Anikó

3. PROJEKT TARTALMI ÖSSZEFOGLALÓJA

A „Transzlációs Biomedicina” tématerület célja a jelentős társadalmi és gazdasági terhet jelentő gyulladásos és degeneratív betegségek patogenezisének megértése és célzott terápiás lehetőségek kidolgozása. A fókuszterületek azonosításában elsődleges szempont volt a rendelkezésre álló know-how, a kiválóság és a nemzetközi versenyképesség. A tématerületen 3 ELKH Lendület és 2 ELKH-SZTE kutatócsoport működik együtt további kiemelten eredményes csoportokkal, melyek közül 2 ERC, 5 HCEMM támogatással rendelkezik. A csoportok kiválasztásánál a kiválóság mellett törekedtünk arra is, hogy a tapasztalt kutatók mellett ígéretes fiatalok is lehetőséget kapjanak, akik rendszeresen publikálnak D1-es besorolású folyóiratokban. A megelőző periódusban sikerült kiemelten versenyképes kutatócsoportokat az SZTE-re hozni melyek számát tovább bővítjük, ami nagyban növeli az egyetem versenyképességét és a nemzetközi rangsorokban elfoglalt helyét.

A tématerület kialakítása során az elsődleges prioritásunk volt, hogy a vizsgált betegségek patogenezisének rendszer szintű, nagy felbontású analízisével új gyógyszer támadáspontokat azonosítsunk, melyeket aztán célzott módon, specifikus terápiával befolyásoljunk. A projekt egyik kiemelt célja az emberi szervezet barrier rendszerein (bőr és gasztrointesztinális epitélium) zajló folyamatok megértése, valamint ezek gyulladásos betegségekben betöltött szerepének feltárása. A tématerület másik fókuszpontja az életminőséget jelentősen rontó neurológiai kórképek kialakulásának megértése. A kóros folyamatok nagy felbontású, valós idejű megfigyelése elvezethet a sejtípus specifikus terápiás támadáspontok azonosításához és célzott kezeléséhez. Céljaink eléréséhez és a kutatások társadalmi hasznosságát növeléséhez komplett szemléletváltás szükséges. A klasszikus biomedicinális megközelítés egyedi mintagyűjtésen, tudományos érdeklődés vezérelte vizsgálatokon alapszik, mely hasznosulása alacsony, mivel alapvetően nem elvárás, illetve nem indukál szisztematikus vizsgálatokat, mivel általában specifikus kérdésekre fókuszál. Ezzel szemben a korábbi támogatási ciklusban új koncepciót sikerült megvalósítanunk, mely a mérnöki és anyagtudományi határterületek bevonásával drasztikusan növeli a vizsgálati áteresztőképességet (egy molekula, egy jelút, vagy egy-egy idegsejt vizsgálata helyett több ezer egy időben). Szoros kollaborációkon és szinergiákon alapuló, multidiszciplináris együttműködést hoztunk létre, melyben biológusok, mérnökök, informatikusok, kutatóorvosok és klinikusok vesznek részt. Ez a felépítés a kutatások transzlációs profilját erősíti és garanciát jelent az eredmények gyors, gyakorlatorientált hasznosítására. Az új koncepció segítségével számos kiemelkedő eredményt értünk el az azonosított fókuszterületeken, melyekre a következő évek

kutatásai épülhetnek. Nagy hangsúlyt fektettünk a megfelelő *in vitro* modell platformok kialakítására, melyek felhasználásával a következő fázisban nagy áteresztésű vizsgálatok végezhetők sejtszintű felbontással. Ennek során mesenchymális őssejteket izoláltunk humán zsírszövet mintákból, melyeket molekuláris szinten jellemeztünk mind ép, mind szimulált patológiás viszonyok között. Humán indukált pluripotens őssejtekből neurális prekursorokat differenciáltattunk és jellemeztünk. 3 dimenziós organoid kultúrákat hoztunk létre humán és rágszáló szövetekből (vastagbél, máj, tüdő, hasnyálmirigy) és készítettünk komplex deskriptív elemzést. Nagy áteresztésű vizsgálati módszerekkel jellemeztük a humán patogén gomba törzseket és a kórokozó képességben szerepet játszó géneket azonosítottunk. Kimutattuk, hogy egyes gombafajok jelentősen fokozhatják a daganat metasztázis képződését. Beállítottuk több neurodegeneratív betegség állatmodelljét, pilot implantációkat végeztünk, és multiregionális méréseket folytattunk a szabadon viselkedő implantált állatok számos agyterületéből. A világon elsőként azonosítottunk több emberi idegsejt típust (csipkebogyó sejt, több piramissejt típus), amelyek hiányoznak a rágszálókból. Kidolgoztunk egy speciális optogenetikai eljárást, amely pályá- és célterület-specifikusan képes tartósan meggátolni adott sejtípusok neurotranszmitter felszabadulását. A tudományos eredmények mellett jelentős előre lépések történtek a kutatási infrastruktúra fejlesztése terén is. A szinergiák kihasználásával új core facilitásokat hoztunk létre, melyek jelentősen növelik az egyes csoportok tudományos teljesítményét, illetve csökkentik az eszközpark redundanciáját. Ezen belül az állatházi és mikroszkópos kapacitások optimális kihasználásával jelentős költségcsökkentést volt elérhető, segítette a know-how megosztását és csoportok hozzáférését a különböző technikákhoz, ami segítette a hatékony munkát. A sejtenyésztési és molekuláris biológiai feladatokat szintén egy közösen használt facilitásba szerveztük, melyhez több eszközt is beszereztünk. A szemléletváltás, szinergiák és jobban kihasznált kutatási infrastruktúra nyújtotta előnyök hatására nőtt a PhD képzésben részt vevők száma. A publikációs aktivitásban szintén jelentős emelkedést sikerült elérni mind mennyiségi, mind minőségi téren, hiszen a publikált közel 80 közlemény több mint fele D1 minősítésű nemzetközi folyóiratban jelent meg.

A TKP2021 kiírásra benyújtott kutatási tervünk logikus folytatása az eddigi munkának kiaknázva a már létrehozott modell rendszereket, szinergiákat és know-how-t, mivel a projekt eddigi eredményei számos területen teszik lehetővé a humán gyógyászati, vagy ipari hasznosítást. Az *in vitro* sejtrendszereket továbbfejlesztjük és felhasználásukkal vizsgáljuk a sejtekben a jelátviteli utakat és interakciókat nagy áteresztésű módszerekkel), ami személyre szabott gyógyszer támadáspontok azonosítását eredményezi a gyulladásos és daganatos megbetegedésekben. A bőr epithel barrier funkciójának vizsgálata a bőr gyulladásos betegségeinek jobb megértését és potenciális gyógyszerhatóanyagok tesztelését teszi lehetővé.

Az előző időszakban sikeresen létrehozott psoriasis betegség specifikus iPS sejtek további főként differenciációs és immunológiai vizsgálataival eddig ismeretlen folyamatokat azonosítunk. Eredményeinkre alapozva Európában először végzünk klinikai fázis I. vizsgálatot psoriasis sejterápiás kezelésének vizsgálatára. A mikrobiom megváltozása eredményeink alapján közvetlenül befolyásolja egyes betegségek kialakulását, ezért további betegségekben vizsgáljuk a gombás fertőzés szerepét, amely megalapozhat új terápiás ajánlásokat vagy eljárásokat. A létrehozott mutánsbank és a kifejlesztett patogenitási modellek, lehetővé teszik a gombaellenes szerekkel szembeni rezisztencia molekuláris hátterének feltárását, valamint új antifungális targetek elemzését. Az idegsejthálózatokkal való nagyfelbontású kommunikáció újonnan kidolgozott eszközkészletével lehetővé válik a legnagyobb terhet jelentő neuropszichiátriai betegségek sejthálózat szintű hátterének feltárása, és új terápiás támadáspontok azonosítása. Kutatásaink számos ponton kapcsolódnak a COVID-19 pandémiához is. A csoportok kiemelten fontosnak tartják a kutatási eredmények mielőbbi társadalmi és ipari hasznosulását, ezért a termelődő know-how-t, és szabadalmakat innovációban jártas szakemberek bevonásával mozdítjuk az ipari hasznosítás irányába mozdítani, amelyhez a határterületek eredményei újra integrálásra kerülnek. Végeredményként személyre szabott molekuláris terápiák, fejlett gyógyszerterápiás (sejterápiás) eljárások és orvostechikai eszközök kerülnek kifejlesztésre.

4. A PROJEKT CÉLKITŰZÉSEI

A “Transzlációs Biomedicina” tématerületben együttműködő kutatócsoportok célja a jelentős társadalmi és gazdasági terhet jelentő gyulladásos és degeneratív betegségek patogenezisének megértése és célzott, személyre szabott terápiás lehetőségek kidolgozása. Az életminőséget jelentősen rontó, több 100 millió embert érintő kórképek patomechanizmusának feltérképezése a betegségek hátterében álló folyamatok nagy felbontású, valós idejű megfigyelésével, mely elvezethet a sejttípus specifikus terápiás támadáspontok azonosításához és célzott kezeléséhez.

Az emberi szervezet határfelületei a környezeti ingerekkel, köztük a mikróbákkal szembeni első védelmi vonalat alkotják. A két legkiterjedtebb barrier, a bőr és a béltraktus defektusához köthetők a legmagasabb prevalenciájú humán betegségek, mint az acne vulgaris, psoriasis, vagy a gyulladásos bélbetegségek, melyek több százmillió ember életminőségét rontják. A gyulladásos bőrbetegségek, köztük a psoriasis molekuláris patogenezisének jobb megismerése számos új, biológiai gyógyszer bevezetését eredményezte. Azonban ezek alkalmazása nem vezet definitív gyógyuláshoz, és gyakori a hatásvesztés, ezért kezelésük továbbra is jelentős kihívás. Alternatív kezelés lehet a T limfocita aktivációt gátló mesenhimális őssejtekkel történő kezelés, vagy a patogén limfocita klónok eliminálását követő hemopoetikus őssejtekkel (HSC) történő csontvelő transzplantáció. Allogén HSC transzplantációt követően 20 évig tartó tartós tünetmentességet sikerült elérni psoriasisos betegen. Sejt terápián alapuló kontrollált klinikai vizsgálat psoriasisban azonban még nem történt. Emellett korábbi eredményeink arra utalnak, hogy a pikkelysömörben az mRNS-érési (splicing) folyamatok szabályozása megváltozott, mely szintén kulcsfontosságú a betegség kialakulásában, azonban ennek pontos mechanizmusa nem ismert a gyulladásos bőrbetegségekben. A gyulladásos folyamatok során a szöveti regeneráció károsodása fibrózis kialakulásával jár, mely a maradék parenchima atrófiája mellett jelentősen károsítja a szervi funkciókat. A megnövekedett TGF- β szint a fibroblasztok aktív fenotípusát eredményezi, fokozza a fibrózist, míg a BMP7 antifibrotikus hatású. Ezért ezen jelátviteli utak befolyásolása terápiás potenciállal kecsegtet. A szöveti károsodás mellett a felszaporodó fibroblasztok befolyásolhatják a szervet ép körülmények között felépítő sejtek működését és különböző farmakonokra adott válaszát. Azonban a sejtek közötti kommunikáció részletei nem ismertek kellőképpen.

A gyulladásos folyamatok kialakulásában az autoimmun folyamatok mellett fontos az emberi szervezet és a mikrobióta kölcsönhatása. A szervezetben előforduló diverz mikrobiális közösség összetételének megváltozása számos betegség kialakulását idézheti. Az egészséges emberi szervezetben megtalálható mikrobióta vírus, bakteriális és gomba fajokat is tartalmaz, azonban ez utóbbi élőlénycsoport

mikrobiótában betöltött szerepéről kevés információval rendelkezünk. Az azonban hosszú ideje ismert, hogy a mikrobióta (a mikrobióta gomba komponenseinek összessége) egyes tagjai opportunistá patogénként komoly fertőzések kiváltására is képesek. Az egyes betegcsoportokat (különösen az immunszuppresszált betegeket, tüdő- és cukorbetegségben, COVID-19, illetve poszt-COVID vagy daganatos betegségben szenvedőket) érintő gombafertőzések gyakorisága emelkedő tendenciát mutat. Az ilyen fertőzések halálozási aránya elfogadhatatlanul magas, ugyanakkor kimutatásuk és nyomon követésük nehéz, a kezelésükhöz választható gombaellenes szerek spektruma behatárolt, a rezisztens törzsek egyre elterjedtebbek, és a gombás fertőzés alapbetegsége (pl. daganatokra) gyakorolt hatása sem ismert. Mindezek fényében a fonalas gombák, különösen a mucormikózisok nyomon követése és kezelésének fejlesztése kiemelt fontosságú.

A téma terület harmadik kiemelt fókuszpontját a neurológiai rendellenességek alkotják, melyek a modern világ nagy kihívásai közé tartoznak. A kutatásokat jelentősen limitálja, hogy a humán cortex felépítéséről és az abban található, az emberi agyra egyedi módon jellemző sejt típusokról elenyészően keveset tudunk, ezért ezek feltárása elsődleges fontosságú. Az akut agysérülések, köztük a stroke a második leggyakoribb halálokok világszerte. A stroke klinikai kezelése szempontjából tehát alapvető a reperfüziós kezelés hatékonyságának optimalizálása, melyhez elengedhetetlen az érintett agyterületen végbemenő olyan szekunder kórélettani jelenségek mechanizmusainak megismerése, melyek a reperfüziót gátolják, és terápiás célpontként szolgálhatnak. Az akut agysérülések mellett hasonló mértékű problémát jelentenek a neurodegeneratív betegségek és neuropszichiátriai kórképek, melyek közül az Alzheimer betegség (AD) az egyi leggyakoribb. Az előregedő nyugati társadalmakban már jelenleg is több 100 millió embert érintenek, számuk pedig várhatóan exponenciálisan emelkedni fog. Az új terápiás eljárások kifejlesztése azonban nehézségekbe ütközik: jelenleg nem, illetve alig állnak rendelkezésre megbízható, humán in vitro modell rendszerek, az állat modellek pedig csak korlátozott mértékben reprodukálják az emberi betegség jellemzőit. Ezért az új, innovatív sejtes modellek, amik lehetővé teszik a hatóanyagok gyors és költséghatékony tesztelését, kiemelet jelentőségűek. A központi idegrendszeri betegségek kezelésében további limitáció, hogy a gyógyszeres megközelítések az agy specifikus receptorait és sejt típusait tudják megcélózni, de nem képesek szelektíven a kívánt agyi területekre hatni. Ráadásul hatásuk időbeli mintázata nem igazodik a betegség finom dinamikájához; a tünetmentes időszakokban is nemkívánatos folyamatos hatásuk van. A szorongásos és PTSD és a major depressziós zavarok mintegy 20-30%-a nem reagál a standard gyógyszeres beavatkozásokra. Ezzel szemben számos neuropszichiátriai betegség zavart hálózati dinamikával párosul, amelyek "oszcollopatiáknak" tekinthetők. Ezért a kóros neuronális

aktivitások térben és időben fókuszált mesterséges elektromos oszcillációkkal módosíthatóak, ami meggátolhatja a betegségek tüneteinek kifejeződését.

5. SZAKMAI PROGRAM

A “Transzlációs Biomedicina” tématerületben együttműködő kutatócsoportok célja a jelentős társadalmi és gazdasági terhet jelentő gyulladásos és degeneratív betegségek patogenezisének megértése és célzott, személyre szabott terápiás lehetőségek kidolgozása. Az életminőséget jelentősen rontó, több 100 millió embert érintő kórképek patomechanizmusának feltérképezése a betegségek hátterében álló folyamatok nagy felbontású, valós idejű megfigyelésével, mely elvezethet a sejtípus specifikus terápiás támadáspontok azonosításához és célzott kezeléséhez. A tématerület keretében az együttműködő kutatócsoportok három fő területre fókuszálnak.

A. Személyre szabott terápiás fejlesztések és sejt terápia

Az alprogram fő célkitűzései a barrier rendszerek (bőr és a gasztrointesztinális traktus) gyulladásos betegségeinek részletes megértése, új gyógyszer támadáspontok azonosítása és úttörő kezelési módok kidolgozása.

Az alprogramhoz kapcsolódóan kimutattuk, hogy az ismerten antivirális hatású, szintetikus kismolekula tiloron-dihidroklorid a BMP-Smad1/5/8 útvonal aktivációján keresztül csökkentette TGF- β által indukált profibrotikus hatásokat humán légúti fibroblasztokban, csökkentette a TGF- β indukált sejtmigrációt, alfa-SMA expressziót, helyreállította az extracelluláris mátrix elaszticitását, ezáltal a tiloron, illetve az általa aktivált jelátviteli útvonal antifibrotikus hatású. Továbbá, a tiloron-mediált jelátviteli folyamatok a BMP családtagok expressziójának növelésével *in vitro* fokozzák a myoblastok differenciációját és fúzióját, a képződött myotubulusok számát és méretét. *In vivo* eredményeink alapján az atrofizált denervált izom tömegét megnöveli a tiloron kezelés, a nem denervált izmok méretére nincs hatása egér modellben. Előállítottuk a tiloron lassú felszabadulását, injektálható formáját, amellyel a denervált izom lokálisan injektálható, ezáltal megteremtve a gégeszeti alkalmazás lehetőségét atrofizált M. vocalis esetén. A syndecan-4 transzmembrán proteoglikán expressziójának csökkentésével a syndecan-4/Rac1 GTP-áz útvonal mediált aktin citoszkeleton változásokon keresztül szintén fokozódik az *in vitro* myoblast differenciáció és fúzió, a téma transzlációs jelentőségét adja, hogy humán rhabdomyosarcomák Pax-Foxo génfúziót nem mutató csoportjában a syndecan-4 génaplikáció és mRNS overexpresszió van jelen. A tiloron továbbá fokozza az izom glükózfelvételét *in vitro* és *in vivo*. Az Akt2/AS160(TBC1D4) jelátvitel aktiválódott tiloron hatására, amely a GLUT4 transzlokáció kritikus szabályozója, valamint nőtt a GLUT4 és a GLUT1 glükóztanszporterek mennyisége, mely a 18FDG glükóz analóg felvételének fokozódásához vezetett. Továbbá, a tiloron inzulin-érzékenyítő hatással

rendelkezik. In vivo a tiloron a vázizomzat, a máj és a zsírszövet 18FDG-felvételének mintegy 3-szoros növekedését eredményezte C57BL/6 egerekben. Eredményeink új perspektívákat nyithatnak a 2-es típusú cukorbetegség kezelésében.

Munkánk során a plasztikai sebészeti mintákból izolált mesenchymális őssejteket (MSC) jellemeztük immunológiai tulajdonságaik szempontjából, amelyek kulcsfontosságúak a sejterápiás termékek kifejlesztéséhez. A transzkriptomikai elemzés jelentős változásokat mutatott ki a gyulladásos faktorok (LPS, TNF- α , IL-1 β , IFN- γ és PolyI:C) által indukált génexpresszióban, hangsúlyozva a transzkriptomra gyakorolt komplex és változatos hatást. A ViseaGO-elemzés és a klaszterezett útvonalak kategorizálták a kezeléseket, bemutatta a fertőzés elleni védekezés, az immunválasz és a jelátvitel közös vonásait és különbségeit. A molekuláris útvonalakra gyakorolt eltérő hatások kiemelik a sejt folyamatokkal való bonyolult kölcsönhatásokat, a megfigyelt közös változásokkal együtt. A sebgyógyulás dinamikája, amelyet impedanciamérésekkel vizsgáltunk, figyelemre méltó különbségeket mutatott a kezelt minták és a kontrollcsoport között. Az IL-1 β kezelés jelentősen befolyásolta a sebzáródást, gyorsítva vagy lassítva a folyamatot a sebindukcióhoz viszonyított alkalmazási időzítéstől függően. A gén- és fehérje expressziós elemzések (qPCR és ELISA) kezelés-specifikus mintázatokat mutattak, beleértve a CXCL-8 következetes felfelé irányuló szabályozását, valamint a NAGS és a STAT6 lefelé irányuló szabályozását. A multiplex ELISA eredmények a citokinszintek jelentős változását jelezték, kiemelve a különböző immunmoduláló hatásokat. A létrehozott in vitro gyulladásos modellek az ipari K+F tevékenységünk alapját képezik. Az MSC-k és a pikkelysömörös betegek perifériás vérenek mononukleáris sejtjei együttes tenyésztése a donorfüggő hatásokat mutatott ki a T-sejtek proliferációjára, ami az MSC immunszuppresszió további vizsgálatát teszi szükségessé. A pikkelysömörös betegek perifériás véréből származó sejtek indukált pluripotens őssejteké (iPSC-k) programozása és differenciálása pikkelysömör-specifikus keratinocitákká lehetővé tette a mesterségesen létrehozott sejtek összehasonlítását a betegekből származó sejtekkel, amelyek jelenleg folyamatban lévő transzkriptomikai elemzés alatt állnak.

Az mRNS-érési folyamatok zavarai különböző betegségek kialakulásához vezetnek. A gyulladásos molekulák splicing-folyamatai olyan megváltozott aktivitású izotípusok megjelenését eredményezhetik, amely a gyulladás szabályozásának újabb szintjét jelenti. A pikkelysömörös hámszövetben számos olyan gyulladásos molekula található meg, melyeknek korábban kimutatták splice-variánsait professzionális immunsejtekben. Szintén ismert tény, hogy a sejtekben megemelkedő szabad nukleinsavak szintje gyulladásos folyamatok kialakulását indukálja. Ezen körülmények in vitro modellezésére keratinocita sejteket kezeltünk nukleinsav analógokkal és olyan gének expressziójának változását detektáltuk, amelyek szerepet játszanak a gyulladásos folyamatokban és több mRNS variánsukat (splicing variáns) is leírták.

Az így azonosított gének közül négyet választottunk ki további vizsgálatokra, amelyek alapszinten nem, nukleinsav indukciót követően viszont magas szinten fejeződnek ki keratinocitákban. Ezek közül három kemokint kódol, közülük a fraktalkinnak két izoformája szerepel az adatbázisokban. Érdekesnek tűnt egy DNS kötő tulajdonsággal bíró fehérje, a ZBP1 további vizsgálata is, amelynek négy splicing variánsa ismert az irodalomból. A vizsgálatok során kimutattuk, hogy a citoplazmatikus nukleinsavak kemokin expressziót indukálnak keratinocitákban, elsősorban az NF- κ B jelátviteli útvonalon keresztül, azonban az indukció mértéke és kinetikája különbözik az egyes kemokinok esetében. Az adatbázisokban szereplő két fraktalkin mRNS variáns közül csak az egyik detektálható keratinocitákban. A ZBP1 mRNS négy splicing variánsa jelent meg keratinocitákban nukleinsav kezelés hatására, amelyeket szekvenálással azonosítottunk. Az egyes variánsok szerepének tisztásához elkezdtük in vitro klónjaik előállítását. Annak további vizsgálatára, hogy a fentiekben leírt gének nukleinsav indukált gyulladást kiváltó hatása milyen jelátviteli útvonalakon keresztül érvényesül, különböző luciferáz alapú riporter konstrukciókat hoztunk létre.

A gasztrointesztinális traktus gyulladásos megbetegedéseinek vizsgálatához új, primér sejteken alapuló modelleket hoztunk létre, melyhez humán hasnyálmirigy mintákból felnőtt összejteket izoláltunk. Az így létrehozott organoid kultúrák (OC-k) transzkriptómját szekvenálással meghatároztuk, melynek az epitél marker gének (CFTR, KRT19, OCLN, SOX9, EPCAM, CDH1, HES1) expresszióját mutatta, de sem endokrin, sem acinus markereket nem, amit fehérje szinten is validáltuk. Megfigyeltük, hogy a Matrigel eltávolítása a kialakult OC-ról az apiko-bazális polaritás megváltozásával jár (az organoidok apikális pólusa kifelé fordul), amit mind a polarizált fehérjék expressziójával, mind elektron mikroszkópos morfológiai vizsgálatokkal validáltunk. Az „apical-out” OC-ken két új ioncsatrona - a Anoctamin1 és az ENaC - expresszióját és funkcióját is igazoltuk az apikális membránon. Ezeket primér humán hasnyálmirigy szövettani mintákon is detektáltuk. Ezek a jelenlegi hasnyálmirigy szekréciós modell revízióját indokolják. A létrehozott modell felhasználásával vizsgáltuk a heveny és krónikus hasnyálmirigy gyulladás kialakulását és kezelési lehetőségeit. Kimutattuk, hogy az Orai1 gátlása csökkenti a toxikus Ca^{2+} szignál és a mitokondrium károsodás kialakulását mind epesav, mind alkohol kezelés során a duktális epitél sejteken. Emellett igazoltuk azt is, hogy a duktális HCO_3^- szekréció és CFTR aktivitás károsodását is kivédik in vitro és in vivo az experimentális heveny hasnyálmirigy gyulladás során. Kimutattuk továbbá, hogy az Orai1 aktivitása jelentősen fokozódik a krónikus pankreatitisz (KP) kialakulása során hasnyálmirigy acinus sejtekben. Ennek hátterében mind egér, mind humán KP-s betegek hasnyálmirigyében a SARAF csökkent expressziója állt. Az Orai1 gátlása jelentősen csökkentette a hasnyálmirigy atrófiáját, valamint a szöveti fibrózist, kivédte a duktális funkció csökkenését és az

apikális CFTR expresszió károsodását. Az izolált fibroblastokon végzett vizsgálataink alapján a CM5480 kezelés csökkentette az extracelluláris Ca^{2+} beáramlást és a fibroblastok proliferációját, ami megmagyarázza a csökkent szöveti fibrózist.

B. Transzlációs infektológia, személyre szabott diagnosztika és terápia

A korábbi tématerületi projekt eredményeire építve az alprogram célja az előre törő invazív fonalas gombafertőzések pato- és rezisztencia mechanizmusainak, valamint tumorokra gyakorolt hatásának megértése és ezek alapján új kezelési stratégiák tervezése.

A beszámolási időszakban jelentős előrehaladást értünk el a *Candida* fajok és tumorok közötti interakciók vizsgálatában. Különös figyelmet fordítottunk a candidalysin toxinra, annak tumor sejtekre gyakorolt hatásaira. *In vitro* kísérleteink során megállapítottuk, hogy a candidalysin jelentős hatással van a tumorsejtek proliferációjára és migrációjára. Eredményeink rávilágítanak a candidalysin potenciális szerepére a tumorok fejlődésében, ami új terápiás lehetőségeket nyithat meg. Az orális kandidiázis egérmódelünk alkalmazásával mélyebb betekintést nyertünk a candidalysin hatásmechanizmusába. A modell segítségével tanulmányoztuk a humán tumor sejtekre gyakorolt hatásokat, azonosítottunk számos gyulladásos és sejt-proliferációban szerepet játszó útvonalat, amelyek a későbbiekben potenciális terápiás targetként szolgálhatnak. A hosszú idejű *Candida* kolonizáció és az orális tumorok kialakulásának kapcsolatát vizsgálva, új összefüggésekre derítettünk fényt a tumorogenezis területén. Eredményeink fontos lépéseket jelentenek a *Candida*-tumor interakciók megértésében, és hozzájárulnak az innovatív kezelési módszerek kifejlesztéséhez.

A fertőzés során expresszálandó fehérjéket és génjeiket transzkriptomikai és proteomikai vizsgálatokkal azonosítottunk. A mucormikózisokat okozó gombák patogenitásban és az immunrendszer általi felismerésben közreműködő sejtfelszíni fehérjék (pl. CotH, HsbA, PDR, QDR, ARN fehérjecsaldók tagjai) funkcióit részletesen elemeztük. A génfunkciókat a géekre nézve deléciós gombatörzsek létrehozásával részletesen elemeztük *in vitro* és *in vivo* modellekben. Az azonosított sejtfelszíni fehérjék antigén és immunológiai jellemzőit elemeztük. *In silico* prediktív analízissel potenciálisan megcélozható epitópokat kerestünk. Ennek eredményeként fehérjéket tudunk javasolni tesztelésre potenciális mRNS vakcina jelöltként. Az mRNS-alapú tesztelési kísérletekhez egyes fehérjék (CotH) esetében az mRNS-ek elkészültek. Megkezdtük a kolonizáció, illetve fertőzés során termelődő extracelluláris vezikulák tisztítását és elemzését is. A klinikumban használt gombaellenes szerek fő célpontjaként ismert ergoszterin bioszintézisét meghatározó génekre nézve deléciós gombatörzseket hoztunk létre és vizsgáltuk az így kapott mutánsokban az szterol összetétel és a gombaellenes szerekkel szembeni

érzékenység változását. Megállapítottuk, hogy az azokkal szembeni rezisztencia egyik fő összetevője, hogy a gomba hatékonyan kerüli el a szer hatását azáltal, hogy a bioszintézis gátlására válaszul alternatív útvonalakon nem toxikus szterolokat képez. Azonosítottunk olyan géneket/fehérjéket, pl. Erg6, Erg11, Erg24, ahol az útvonal esetleg hatékonyabban gátolható.

C. Transzlációs neurobiológia és neurokibernetika

Az alprogram fő célkitűzései új humán idegsejtek azonosítása és jellemzése, az agyi kórképek patofiziológiájának részletes megértése, új, innovatív in vitro modellek fejlesztése, illetve újfajta kezelési lehetőségek kidolgozása.

A kutatásunk a zárt hurkú elektroterápiás módszerek hatékonyságának vizsgálatára összpontosított, különös tekintettel az epilepszia és a szorongásos depressziós zavarok kezelésére. Az elmúlt időszakban jelentős előrehaladást értünk el mindkét területen. Az epilepszia kezelésében a zárt hurkú neurostimuláció alkalmazása új lehetőségeket nyitott meg. A klinikai vizsgálatok során 10 beteg adatainak elemzése alapján megállapítottuk, hogy ez a módszer hatékonyan rövidíti meg a rohamok időtartamát és megakadályozza azok generalizálódását. Ez a felfedezés fontos lépést jelent az epilepszia kezelésében, és új utakat nyithat meg a jövőbeni terápiák fejlesztéséhez. A szorongás és depresszió területén a zárt hurkú neurostimuláció hatásainak vizsgálata új megközelítéseket tárt fel a patológiás félelmek kezelésében. Kutatásaink kimutatták, hogy ez a módszer hatékonyan csökkenti a félelemreakciókat és elősegíti a patológiás félelmek kiküszöbölését. Továbbá, a depressziós tünetek enyhítésében is jelentős előrelépést értünk el. Ezen kutatások nemcsak a tudományos közösség számára nyújtanak értékes betekintést, hanem potenciálisan hozzájárulnak az új terápiás módszerek kifejlesztéséhez is. A kutatásaink eredményei jelentős üzleti potenciállal bírnak, és elősegíthetik a neurológiai betegségek kezelésében alkalmazott technológiák innovációját.

Sikeresen hoztunk létre hiPSC-eredetű 2D és 3D neuronális modellrendszereket, melyek alkalmasak a neurodegeneratív betegségek és neurofejlődési toxikológiák tanulmányozására. A kísérleti eredmények alapján a P2X7 receptorok kifejeződnek az emberi hiPSC-eredetű mikroglia sejteken, az hiPSC-eredetű neuronális őssejteken és az hiPSC-eredetű érett neuronális sejteken. Azonban a sejtfelszíni fehérjefelismerő tesztek alkalmazásával kimutattuk, hogy a P2X7R, bár észlelhető a neuronális sejtekben, nincs lokalizálva a sejtfelületen, és így nem áll rendelkezésre a membránpórus kialakításához vagy közvetlen neurotoxicitás kiváltásához. Az hiPSC-eredetű mikroglia sejteken tisztán membrános kifejeződést észleltünk. Nem észleltünk különbségeket a kontroll és az Alzheimer-kóros páciensekből

származtatott neuronális sejtek között. Funkcionális tesztek, amelyek a P2X7R-specifikus antagonistával, a JNJ 47965567-tel történtek, megerősítették ezeket az eredményeket, pontos P2X7R-függő modulációt mutatva a mikrogliaiban a P2X7R-agonista (ATP és BzATP) kezelés során, míg ugyanezen hatás hiányzott a neuronális sejtekből. Mivel a P2X7R kutatások túlnyomó része rágcslómodelleken történt, eredményeink az emberi hiPSC-eredetű neuronális és mikroglia-szerű sejteken értékes hozzájárulást jelentenek, lehetővé téve az extrapolációt az állati modellekről az emberi sejtrendszerre és a klinikai alkalmazás irányában. További kutatásaink a fejlődési neurotoxikológia területén a biszfenol A (BPA) expozícióra összpontosítottak, amely vegyület számos neuron fejlődési rendellenességgel és agyi rendellenességgel társítható. Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy a BPA zavarokat okozott a kritikus idegi összejt (NSC) jellemzőkben, mint a proliferáció és differenciálódás, bár az alapvető molekuláris mechanizmusok továbbra is vita tárgyát képezik. Kutatunk kiértékelte az in vitro 3D neurális indukció során az emberi hiPSC-k környezetileg releváns BPA koncentrációknak való ismételt kitettség hatásait, egy krónikus expozíciós scenárió szimulálásával. Morfológiai képkalkotó elemzésünk azt mutatta, hogy a BPA 0,01, 0,1 és 1 μM koncentrációkban csökkentette az átlagos szferoid méretét a 21. napon (D21) a neurális indukció során, míg a sejtek életképességére nem volt hatással. Nem észleltünk változást a neurális indukció ütemében a kulcsfontosságú neurális irányvonal és neuroektodermális transzkriptek kifejeződése alapján. A D21-es kvantitatív proteomika több különböző fehérjét azonosított a BPA-kezelt csoportokban, amelyek fontos szerepet játszanak az NSC proliferáció terén. Ezenkívül a proteomikai hálózatelemzés változásokat mutatott ki a glikolitikus jelátviteli útvonalon, amelyek potenciálisan megmagyarázhatják a BPA által okozott változásokat az NSC proliferációban, valamint az agyi rendellenességekben, beleértve az intellektuális fogyatékosságot, az autizmus spektrumzavarokat és az amyotrófikus laterálszklerózist (ALS). Eredményeink fontosak a BPA-hoz kapcsolódó NSC elváltozások megértéséhez egy új, hosszantartó és alacsony szintű expozíciókat szimuláló emberi 3D sejtalapú modellben, túllépve a korábbi, főként rágcsló in vivo és in vitro modellek akut, gyakran magas dózisú expozíciói valamint az emberi GWAS adatok alapján szerzett ismereteken, és további mechanisztikus betekintést nyújtanak a BPA expozíció következményeire a fejlődő emberi agyban és ennek következtében az idősebb korban kialakuló idegrendszeri rendellenességekre.

Az akut iszkémiás stroke (AIS) betegek közel 45%-nál elégtelen reperfúziót, vagyis szöveti perfúziós csökkenést tapasztalunk sikeres rekanalizációt követően. Az elégtelen reperfúzió hátterében nagy szerepet tölthet be az érintett agyterület kollaterális keringésének épsége. A hiányos kollaterális keringés másodlagos sejsérüléshez; terjedő depolarizációhoz (spreading depolarization, SD) és elégtelen reperfúzióhoz vezethet az AIS után. Kísérleteink során izofluránnal altatott nőstény és hím egereket

használtunk. Mérési protokollunk során 10 perc alapvonal felvétele után 45 percig tranziens bilaterális arteria carotis communis okklúziót (2-vessel occlusion, 2VO) indukáltunk, amelyet 75 perc reperfúzió követett. Az agyi perfúziót Lézer Speckle Kontraszt analízissel, az SD-t zöld fény reflektancia felvételével monitoroztuk. A primer kollaterális keringés épségét fekete tinta kontrasztanyag transzkardiális beadása után, decapitációt követően, sztereo-mikroszkóppal ellenőriztük. Az AIS alatt 51 egérben összesen 46 spontán SD-t regisztráltunk. Az alacsony perfúzió kedvezett az SD megjelenésének és az SD által érintett hemiszfériumon kialakult a sikertelen reperfúzió. Az primer kollaterálisok anatómiai jellemzésekor az SD által érintett hemiszfériummal ipsilaterálisan az állatok 99%-nál inkomplett Willis kört figyeltünk meg. Ezzel ellentétben komplett Willis kör esetén (5/51 egér) nem figyeltünk meg SD-t és reperfúziós sérülést sem. Eredményeink igazolják a primer kollaterális keringés és az SD-k kulcsszerepét az elégtelen reperfúzió kórélettanában. Véleményünk szerint a kollaterális keringés lokális serkentése és az SD-k farmakológiai gátlása ideális terápiás célpont lehet az AIS gyógyászatában.

6. A PROJEKT FŐBB EREDMÉNYEI

Kutatócsoport neve: HUN-REN - SZTE Dermatológiai Kutatócsoport

Vezető kutató: Prof. Dr. Kemény Lajos

A projekt során elért eredmények bemutatása:

A projekt célja az volt, hogy jobban megértsük, hogyan viselkednek a zsírszövetből származó regeneratív őssejtek -úgynevezett mesenchymális őssejtek (MSC-k) -olyan körülmények között, amelyekben a szervezet természetes regenerációs folyamatai károsodnak. Ilyen helyzetek lehetnek a krónikus gyulladásos állapotok, a fertőzések, bizonyos autoimmun bőrbetegségek vagy akár egy daganat által kialakított, erősen megváltozott szöveti környezet. Mivel az MSC-ket ma már széles körben alkalmazzák sejterápiákban, sebgyógyításban vagy regeneratív kezelésekben, kiemelten fontos megérteni, hogy a különböző betegségek által létrehozott mikrokörnyezet miként hat rájuk, és hogyan befolyásolja a terápiás alkalmazásuk eredményességét. A projekt ezt a kérdéskört járta körül több irányból, gyulladásos, fertőzőes, daganatos és autoimmun közegekben végzett sejtes és molekuláris vizsgálatok segítségével. A krónikus gyulladással járó sebek és fekélyek például olyan környezetet jelentenek, ahol az MSC-k terápia során jelentős stressznek vannak kitéve. Az ilyen sebek gyakran nehezen gyógyulnak, a regenerációs folyamatok lelassulnak vagy teljesen leállnak, és a szövetek oxigénhiányos, baktériumokkal terhelt, gyulladt állapotba kerülnek. A projekt egyik fő kérdése az volt, vajon hogyan reagálnak erre a helyzetre az AD-MSC-k, és képesek-e ilyen környezetben hatékonyan támogatni a gyógyulást. A vizsgálatok során azt találtuk, hogy a gyulladásos anyagok, mint például a TNF α vagy a baktériumfalból származó LPS, jelentős változásokat indítanak el az őssejtek működésében. Ezek a változások nagy részben a sejtek génműködésének átállításával járnak: több száz gén kifejeződése megváltozik, ami befolyásolja a sejtek túlélési, osztódási és immunmoduláló képességeit. Bizonyos gyulladásos jelek „aktiválják” a sejteket: ilyenkor megnő több olyan molekula termelése, amelyek elősegítik a sebgyógyulást, a gyulladás lecsillapítását vagy az új erek képződését. A vizsgálatok egyértelműen megmutatták, hogy a gyulladásos közegben aktivált MSC-k hatékonyabban támogatják a sebzáródást laboratóriumi modellben, mint a kezeletlen társaik. Ez a felismerés új lehetőségeket nyit meg a sejterápiák fejlesztésében: elképzelhető, hogy a jövőben az MSC-ket „előkezelik” vagy „felkészítik” bizonyos gyulladásos jelekkel, mielőtt terápiás célból alkalmaznák őket. Így a sejtek már eleve egy aktívabb, regenerációra hangolt állapotban kerülnek be a kezelési környezetbe. A projekt során olyan laboratóriumi rendszereket is létrehoztunk, amelyek segítségével hosszú távon is vizsgálhatók és modellezhetők ezek az úgynevezett

„licensing” folyamatok. Ezek a modellek az ipari fejlesztések és a későbbi preklinikai vizsgálatok számára is értékes eszközként szolgálhatnak.

A másik jelentős kutatási irány a fertőzések, különösen a herpeszvírusok (HSV-1 és HSV-2) hatásának feltérképezése volt az MSC-k működésére. Ez a kérdés azért rendkívül fontos, mert a herpeszvírusok képesek akár évekig lappangani az emberi szervezetben, és gyakran a bőr mélyebb rétegeiben is kimutathatók. A kutatás megmutatta, hogy a herpeszvírusok jelentősen megzavarják az MSC-k működését: megváltoztatják az immunológiai válaszaikat, befolyásolják a sejtek anyagcseréjét, és aktiválják a sejten belüli védekező mechanizmusokat, például az autofágiát. Bár az autofágia a sejtek túlélését segítő természetes folyamat, túlzott aktiválódása akár a regenerációs folyamatok lassulásához is vezethet. A vírusfertőzött MSC-k olyan citokineket kezdenek termelni, amelyek kedvezőtlenül alakíthatják a sebgyógyulás környezetét. A vizsgálatok megerősítették azt a feltevést, hogy víruspozitív betegeknél a sejterápiás kezelések tervezésénél és kivitelezésénél külön odafigyelésre van szükség, hiszen a háttérben rejtetten meghúzódó vírusfertőzés alapvetően módosíthatja a kezelés hatékonyságát.

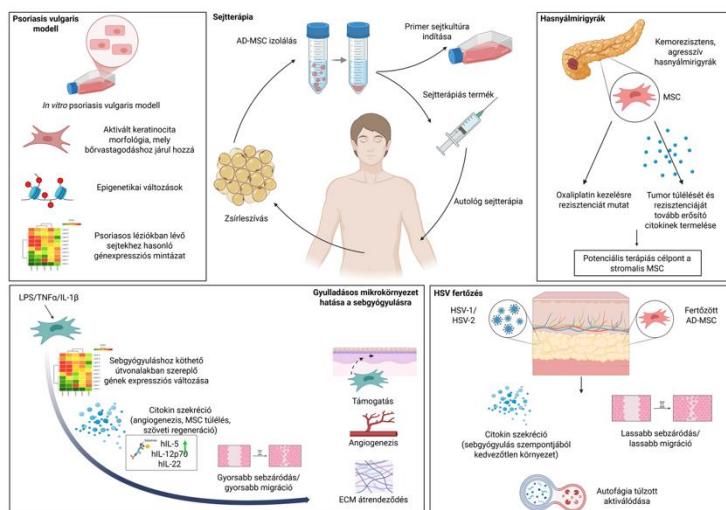
A projekt során egy másik, a bőrgyógyászati alkalmazások szempontjából kiemelten fontos kérdéskört is vizsgáltunk: hogyan reagálnak a bőr hámsejtjei, a keratinociták a psoriasisban jelen lévő gyulladásos környezetre. A psoriasis egy krónikus, gyulladásos autoimmun bőrbetegség, amelyben a bőrsejtek túlműködnek, gyorsabban osztódnak és eltérően differenciálódnak, mint egészséges körülmények között. Kutatócsoportunk létrehozott egy olyan új, sejtes gyulladásos modellt, amely közelebb áll a valódi psoriasisos körülményekhez, mint a korábban használt laboratóriumi rendszerek. A modell segítségével sikerült kimutatni, hogy a bőrsejtek már enyhébb gyulladásos körülmények hatására is olyan génműködési mintázatot vesznek fel, amely nagyon hasonló a psoriasisos léziókban található állapothoz. Megfigyeltük azt is, hogy a keratinociták alakjukban és viselkedésükben is megváltoznak, „aktivált”, fokozott működésű állapotba kerülnek, ami a betegség lényegéhez tartozó bőrmegvastagodáshoz is hozzájárul. A kutatás epigenetikai változásokat is azonosított, vagyis olyan módosulásokat, amelyek a gének működését befolyásolják anélkül, hogy maguk a gének megváltoznának. Ezek a változások segíthetnek megérteni, miért tér vissza a psoriasis sok esetben ugyanazon a bőrfelületen még akkor is, ha a bőr klinikailag már gyógyult állapotot mutat. A projekt fontos lépést tett afelé, hogy olyan modellrendszereket hozzunk létre, amelyekben a jövőben új gyógyszercélpontok vizsgálhatók, illetve személyre szabott terápiás megoldások fejleszthetők.

A projekt egyik innovatív és távlati hatású iránya a daganatokhoz kapcsolódó mikrokörnyezet vizsgálata volt, különösen a hasnyálmirigyrák (PDAC) esetében. Ez az egyik legagresszívabb és legrosszabb túlélési aránnyal rendelkező daganattípus, amelyet nagyfokú kemoterápia-rezisztencia jellemez. A kutatás

meglepő eredményeket hozott: kiderült, hogy az MSC-k rendkívüli módon ellenállnak több széles körben használt kemoterápiás szernek, például az oxaliplatinnak. Sőt, bizonyos kezelések hatására az MSC-k olyan citokineket és faktorokat kezdenek termelni, amelyek tovább erősíthetik a daganat alkalmazkodását és túlélését. Ez arra utal, hogy a jövőbeni daganattellenes terápiáknak a tumorsejtek közvetlen támadása mellett a tumor mikrokörnyezetére -benne a stromális sejtekre, így az MSC-kre -is célozniuk kell.

A projekt nem csupán alapkutatási szempontból volt sikeres, hanem olyan gyakorlati és transzlációs eredményeket is hozott, amelyek közvetlenül felhasználhatók lesznek a regeneratív orvoslás, a sejtherápia, a bőrgyógyászat és az onkológia innovatív fejlesztéseiben. Az itt megszerzett tudás hozzájárul ahhoz, hogy a jövőben biztonságosabb, hatékonyabb és személyre szabottabb kezelések váljanak elérhetővé a betegek számára.

A projekt eredményeit bemutató grafikus absztrakt:



Kutatócsoport neve: Izomadaptációs Kutatócsoport

Vezető kutató: Dr. Keller-Pintér Anikó

A projekt során elért eredmények bemutatása:

A vázizom sérülését követően regenerációra képes és tömege dinamikusan változik testmozgás, öregedés hatására vagy patológiás állapotok, többek között tumoros folyamatok vagy idegsérülés esetén. A hangszalagot felépítő vázizomrostok sorvadása leggyakrabban idegsérülést követő hangszalagbénulás miatt alakul ki, melynek legfontosabb tünete a rekedtség és a nehezített légvétel. A jelenlegi kezelések helyreállítják a hangrés záródását, de nem befolyásolják az izomvesztést. A hangszalag méretének növelése a beidegzés helyreállítása nélkül is terápiás jelentőségű a gége mechanikai tulajdonságai miatt. Azonosítottunk egy vegyületet, amely kisállat modellben idegsérülést követően megnövelte az elsorvadt izom tömegét és az izomrostok méretét, in vitro növelte az izomsejtek differenciációját, a képződött izomrostok számát és területét, és azonosítottuk a vegyület által befolyásolt jelátvitelt. Eredményeink szabadalmi bejelentés alatt állnak.

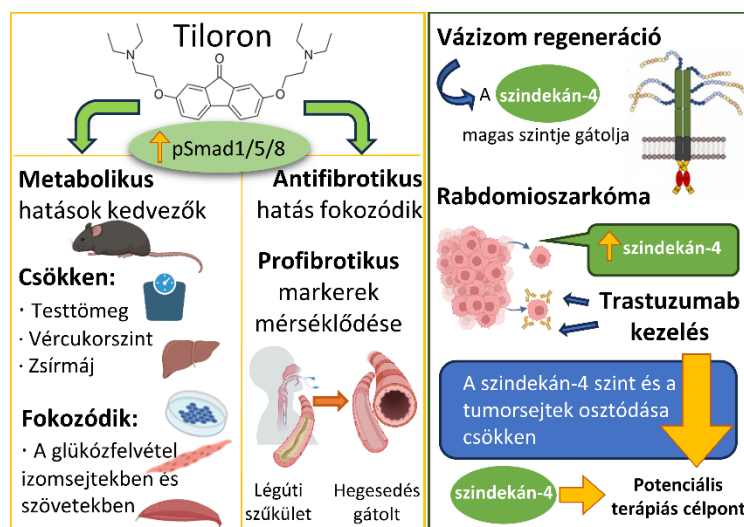
A vázizom regenerációja során az izomban jelen levő őssejtek aktiválódnak, differenciálódnak, majd fúzionálódnak, ezzel helyreállítva a sérült izom szerkezetét. Mivel vizsgáltuk a fenti vegyület hatását az izomdifferenciációra, így megvizsgáltuk a szindekán-4 molekula szerepét is a differenciációban, fúzióban, valamint a leggyakoribb gyermek- és fiatalkori légyszövet eredetű daganatban, a rhabdomyosarkómában, melyet az izomsejtek differenciálódásának zavara jellemez. A trastuzumab kezelés csökkentette a rhabdomyosarkóma sejtek szindekán-4 szintjét és a tumorsejtek osztódását. A HER2 receptor, melyet a trastuzumab gátol, a rhabdomyosarkómák felében kifejeződik, így a trastuzumab által kiváltott, itt megfigyelt változások terápiás következményekkel járhatnak.

A gége hegesedése a hosszan tartó intubáció ritka, de súlyos szövődménye, amely légúti szűkülethez és légzési nehézséghez vezethet. A jelenlegi sebészi és gyógyszeres beavatkozások lehetősége korlátozott, így célunk volt új antifibrotikus szerek keresése. A humán gége szövetmintákon és légúti fibroblaszt sejteken végzett kísérleteink alapján a tiloron-dihidroklorid ellensúlyozta a hegesedést indukáló jelátvitelt és helyreállította a hegesedést gátló, csontmorfogenetikus fehérje-pSmad1/5/8 útvonal aktivitását, lecsökkentve a hegesedésre jellemző kollagének szintjét és így helyreállította a mátrix rugalmasságát.

A vázizom fontos szerepet tölt be az anyagcserében, az inzulinrezisztencia során csökken a vázizom inzulin stimulált glükózfelvétele. Mivel a tiloron jelátviteli pályákra gyakorolt hatása felvetette annak lehetőségét, hogy hatással van a glükózyanyagcserére, így megvizsgáltuk a tiloron metabolikus hatásait izomsejtekben és magas zsírtartalmú diéta egérmodellben. Eredményeink alapján a tiloron fokozta az

izomsejtek és izomrostok glükózfelvételét, javította a magas zsírtartalmú diéta okozta metabolikus eltéréseket, csökkentette a testtömeg-, zsírszöveti súly- és vércukorszint-növekedést, javította a glükóztoleranciát, megnövelte a máj, vázizom, zsírszövet és a szív glükózfelvételét, és csökkentette a zsírmáját. Eredményeink felvetik annak lehetőségét, hogy a tiloront, illetve az általa mediált jelátviteli pályát terápiás jelöltként alkalmazzák.

A projekt eredményeit bemutató grafikus absztrakt:



Kutatócsoport neve: MTA-SZTE Lendület Eпитél Sejt Szignalizáció és Szekréció Kutatócsoport
Vezető kutató: Dr. Maléth József

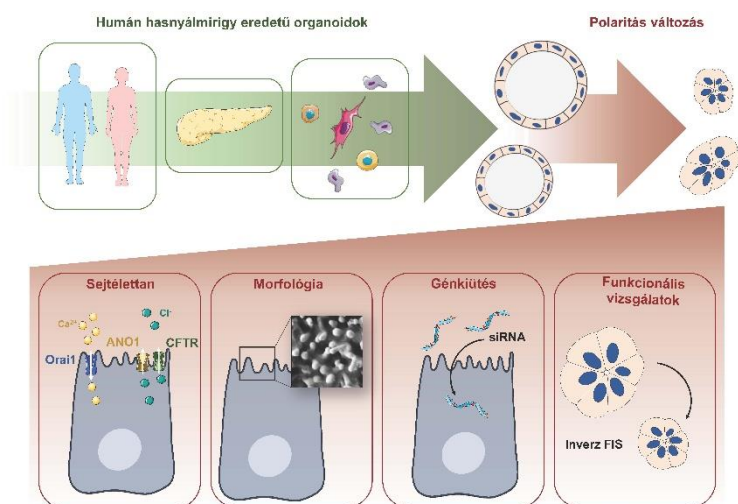
A projekt során elért eredmények bemutatása:

Az elmúlt években a rágcásók és emberek szövet-specifikus, Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5-pozitív (Lgr5+) felnőtt őssejtjeiből származó organoid tenyészetek (organoid cultures, OC-k) a szervfejlődés és a betegségek új modelljeként jelentek meg. A kulcsfontosságú Wnt/ β -katenin jelátvitel aktivitásának fenntartásával az OC-k hosszú távon fenntarthatók in vitro, 3D extracelluláris mátrixban; miközben a tenyészetben lévő hámsejtek megőrzik az eredeti szervre jellemző sejtes diverzitást és szerveződést. Az OC-knek azonban továbbra is vannak korlátaik az apikális membrán korlátozott hozzáférhetősége és más sejttípusok hiánya miatt. Ezért a különböző sejtek kölcsönhatásai nem tanulmányozhatók megfelelően, holott ezek kulcsfontosságúak a krónikus gyulladás kialakulásában. Olyan tenyésztési technikát fejlesztettünk, amely a hagyományos „apical-in” OC-k (ahol a polarizált hámsejtek apikális membránja az organoid lumenje felé néz) polaritásváltását eredményezi. Eredményeink azt sugallják, hogy az ionok és a folyadék irányított transzportja is megfordul az „apical-out” hasnyálmirigy OC-kben, ami csökkent intraluminális nyomáshoz és csökkent sejtnyúláshoz vezet, és ez jobban modellezi a hasnyálmirigy fiziológiáját. Ezzel a fejlett modellel két új ioncsatorna, a Ca^{2+} -aktivált Cl^- -csatorna Anoctamin 1 (ANO1), valamint az epiteliális Na^+ -csatorna (ENaC) expresszióját és működését is igazoltuk, amelyeket korábban nem vették figyelembe a duktális sejtekben. Fontos, hogy adataink azt jelzik: fejlett sejt-tenyésztési technikákkal bővíthetjük az alap- és transzlációs kutatás eszköztárát, és új információkat nyerhetünk. A részletes protokoll a Current Protocols folyóiratban jelent meg (Kiss A et al., Curr Protoc. 2024 Nov;4(11):e70045). Jelentős előrelépést értünk el a hasnyálmirigy epiteliális–stromális kokultúrák fejlesztésében is. Számos tenyésztési feltételt teszteltünk, és meghatároztuk a sejtek optimális arányát a kultúrában, valamint a táptalaj összetételét, amely egyszerre kedvező az epiteliális és a stromális sejtek számára (Kuthy-Sutus et al., kézirat előkészítés alatt). Ezek az emberre releváns, epiteliális és stromális sejteket tartalmazó kokultúra rendszerek, amelyekben az epiteliális–stromális interakciók valós időben tanulmányozhatók, alapvető fontosságúak lehetnek az alapvető preklinikai eredmények generálásában és transzlációjában.

A krónikus pancreatitisnek (CP) jelenleg nincs specifikus farmakológiai terápiája. A CP-ben végzett 2. fázisú klinikai vizsgálatok főként a fájdalomcsillapításra vagy antioxidánsok alkalmazására fókuszáltak, és mérsékelt vagy semmilyen javulást nem eredményeztek. Előrehaladott, végstádiumú betegségben végül már nem reális farmakológiai eszközökkel javulást elérni. Ugyanakkor visszatérő akut pancreatitisben

(recurrent acute pancreatitis, RAP) és korai CP-ben még lehetőség nyílt specifikus gyógyszerek alkalmazására a betegség progressziójának megelőzésére. Legutóbbi közleményünkben a pancreas exokrin részének különböző sejtípusait vizsgáló tapasztalatainkra építve bemutattuk, hogy az Orai1 gátlása megelőzi a RAP és a korai CP progresszióját. Több ex vivo és in vivo preklinikai betegségmodellben igazoltuk, hogy a szelektív Orai1-gátló CM5480 helyreállította a raktárvezérelt Ca^{2+} -belépéshez kapcsolódó szabályozó faktor expresszióját a pancreas acinus sejteiben, megakadályozta a kontrollálatlan Ca^{2+} -szintemelkedést, védte az acinus- és duktális funkciókat, mérsékelte az immunsejt-infiltrációt, és csökkentette a pancreas csillagsejtek (PSC-k) aktivációját, proliferációját és migrációját. Eredményeink azt sugallják, hogy az Orai1 túlaktiválódása kulcsfontosságú patogenetikai esemény a korai CP progressziójában, és az Orai1 gátlása megelőzheti a végstádiumú CP kialakulását. Vizsgálataink azt is kimutatták, hogy a plazminogénaktivátor-inhibitor 1 (PAI-1) potenciális célmolekula CP-ben. A PAI-1 jól ismert tényező a véralvadás szabályozásában, de jelentős szerepet játszik a szöveti fibrózis szabályozásában is. Egy proof-of-concept jellegű in vivo vizsgálatban megmutattuk, hogy a PAI-1 szintje emelkedett CP-betegek szérumában és pancreas szöveteiben. Emelkedett PAI-1 fehérjeexpressziót figyeltünk meg CP-s egerekben is, hasonlóan az emberi CP-mintákhoz; figyelemre méltó, hogy a Crossman-féle trikróm szövettani festés és a hidroxiprolin-meghatározások azt mutatták, hogy a specifikus PAI-1-gátló TM5275 kezelése szignifikánsan mérsékelte a cerulein által kiváltott fibrózist egerekben. Korábbi leírásoknak megfelelően a pancreas duktális sejtek funkcionális és morfológiai károsodása szignifikánsan hozzájárul a CP progressziójához. Előzetes eredményeink arra utalnak, hogy a CFTR modulátorok, különösen a jelenleg cisztás fibrózis kezelésére engedélyezett Trikafta, helyreállíthatják a CP-ben károsodott duktális szekréciót. CP-betegekből származó pancreas duktális organoidokban a CFTR expressziója súlyosan károsodott az apikális membránon, ami korlátozta a CFTR-mediált Cl^- -transzportot és HCO_3^- -szekréciót. Figyelemre méltó módon a klinikailag releváns dózisban, 48 órán át alkalmazott ETI-kezelés helyreállította a CFTR lokalizációját és működését ezekben az organoidokban, ami az ETI-t ígéretes terápiás jelöltként emeli ki.

A projekt eredményeit bemutató grafikus absztrakt:



Kutatócsoport neve: MTA SZTE Lendület Gomba Patogenitási Mechanizmusok Kutatócsoport
Vezető kutató: Dr. Papp Tamás

A projekt során elért eredmények bemutatása:

A kutatás célja humánpatogén, elsősorban ún. mucormikózist okozó fonalas gombák patogenitási és rezisztencia mechanizmusainak megértése volt. Vizsgálatainkban a mucormikózist okozó gombák kutatásának egyik modellszervezetét, a *Mucor lusitanicus* gombát használtuk.

Részletesen jellemeztük a CotH fehérje családot és feltártuk, hogy e fehérjék a spórák felszínén vagy a sejtfa rétegekben helyezkednek el, ahol meghatározó szerepet töltenek be a gazdasejtekhez való kapcsolódásban és a szöveti kolonizáció megindításában. Feltártuk, hogy a *Mucor* CotH fehérjék nélkülözhetetlenek a spórák és a sejtfa integritásának fenntartásához. Számos biológiai folyamatban részt vesznek, többek között a stressz-adaptációban, a sejt-, spóra- és a sporangiumfal kialakításában, a spóraképzés szabályozásában, valamint a gazdaszervezet-specifikus interakciók mediálásában. Hiányuk, illetve gátlásuk *in vivo* fertőzési modellekben a fertőzőképesség jelentős csökkenését eredményezte.

Részletesen vizsgáltuk a HsbA, hidrofób felszínt kötő galaktomannoprotein család tagjait. Megállapítottuk, hogy szerepük kiterjed a sejtfa felszín stabilizálására, a szöveti penetrációra és a fertőzés korai lépéseinek koordinálására. Deléció és a fehérjéket túltermelő mutánsokkal végzett vizsgálatok rávilágítottak, hogy képesek modulálni a felszíni hidrofobitást, a biofilm-képződést, valamint a gazda immunsejtjeivel való interakciókat, befolyásolják a gomba stressz-adaptációs stratégiáit és meghatározó szerepük van a fertőzőképesség kialakulásában.

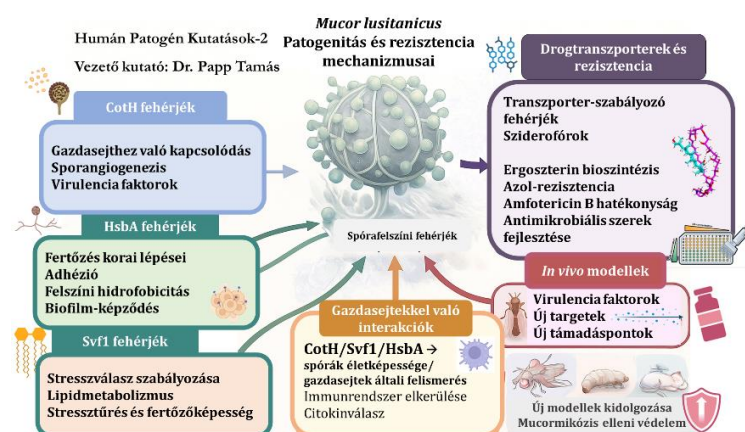
Az Svf1 fehérjék a stresszválasz, a sejtek életképessége és a lipidmetabolizmus központi szabályozói élesztőkben. A *M. lusitanicus* genomjában *svf1* gént azonosítottunk és jellemeztünk. A gén deléciója csökkent növekedést, sporulációs defektust és életképesség-csökkenést eredményezett, valamint fokozott érzékenységet oxidatív-, sejtfa- és hidegstresszre. Az Svf1b hiánya radikálisan átalakította a gombasejtmembrán összetételét, valamint jelentősen csökkentette a gomba patogenitását *in vivo* modellben, összekapcsolva a stressztűrést, a sejtek életképességét és a fertőzőképességet.

Több drog transzporter és az ezek kifejeződését szabályozó fehérje elemzését végeztük el. Hidroxamát típusú sziderofórok felvételért felelős transzportereknek a mucormikózist okozó gombák vasfelvételében, a spórák csírázóképeségében és a patogenitásban betöltött szerepét részletesen elemeztük.

M. lusitanicus-ban feltártuk a klinikumban használt gombaellenes szerek fő célpontjaként ismert ergoszterin bioszintézisének útvonalait. Megállapítottuk, hogy az azokkal szembeni rezisztencia egyik

fő összetevője, hogy a gomba hatékonyan kerüli el a szer hatását azáltal, hogy a bioszintézis gátlására válaszul alternatív útvonalakon nem toxikus szterolokat képez. Az ergoszterin, az ergoszterin-kötő gombaellenes szer, az amfotericin B, valamint kísérleti antimikrobiális szerek komplex-képzését bioinformatikai modellezéssel vizsgáltuk. Kísérletesen igazoltuk, hogy egyes bioaktív vegyületek segítségével az amfotericin B hatékony koncentrációja jelentősen csökkenthető és amfotericin-rezisztens törzsek növekedése is gátolhatóvá válik.

A projekt eredményeit bemutató grafikus absztrakt:



Kutatócsoport neve: MTA-SZTE Lendület Mikrobiom Kutatócsoport

Vezető kutató: Dr. Gácsér Attila

A projekt során elért eredmények bemutatása:

A szájüregi laphámsejtes karcinóma (OSCC) világszerte az egyik leggyakoribb daganattípus, amelynek túlélési mutatói az elmúlt 50 évben alig javultak. A daganatellenes kezelések gyakori mellékhatása a szájüregi gombafertőzés (candidiasis), amelyet eddig csupán kellemetlen kísérőjelenségnek tekintettek. Kutatócsoportunk azt a hipotézist vizsgálta, hogy ezek a gombák (elsősorban a *Candida albicans*) nem passzív szereplők, hanem aktívan elősegítik a daganat növekedését és áttétképződését.

Kísérleteink során igazoltuk, hogy a tumorsejtek és az élő *C. albicans* interakciója során, jelentős mértékben változik a rákos sejtek viselkedése.

- Fokozott terjedés: A gomba hatására a daganatsejtek elszakadnak egymástól és önálló vándorlásba kezdenek, ami az áttétképződés első lépése.
- Szöveti rombolás: A fertőzött tumorsejtek nagyobb mennyiségben termelnek szövetbontó enzimeket (MMP-k), így könnyebben törnek utat maguknak az egészséges szövetekben.
- Anyagcsere-változás: A gomba átprogramozza a ráksejtek anyagcseréjét, olyan vegyületek (onkometabolitok, pl. szukcinát) termelését serkentve, amelyek elősegítik a daganat növekedését.

Speciális egérmodellekben bizonyítottuk, hogy a gombafertőzés jelenléte a szervezetben gyulladást és fokozott trombózishajlamot vált ki, valamint genetikai szinten aktiválja a daganat invázióját segítő folyamatokat (pl. az ún. EMT-átmenetet).

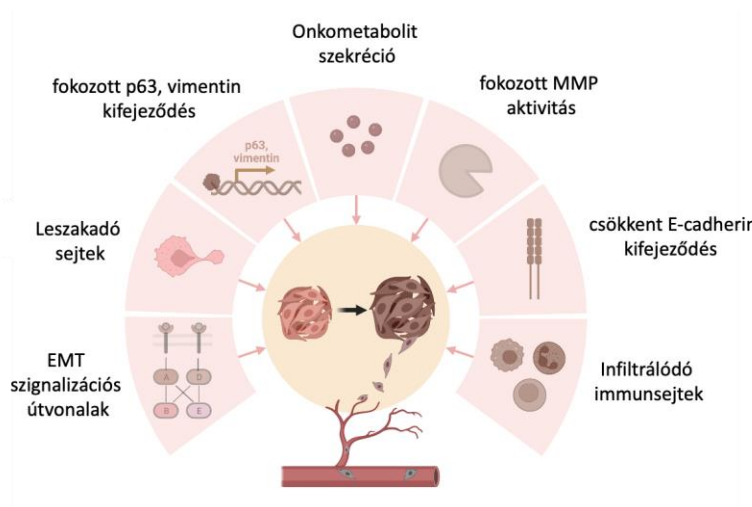
Génexpressziós vizsgálataink során 14 olyan gént azonosítottunk (köztük gyulladáshoz kapcsolódó faktorokat és növekedési faktorokat, mint az IL6 vagy VEGFA), amelyek aktivitása a gomba hatására megemelkedett, és amelyekről ismert, hogy szerepet játszanak a daganatok súlyosbodásában.

Egy dohányzást imitáló modellben azt is kimutattuk, hogy a *C. albicans* jelenléte drámaian, mintegy háromszorosára növelte a rák előszobájának tekinthető súlyos elváltozások (diszplázia) előfordulását.

Összefoglalás:

Eredményeink egyértelműen bizonyítják, hogy a szájüregi *Candida* fertőzés molekuláris szinten gyorsítja a rák progresszióját. Ez a felismerés új terápiás utat nyit: a daganatellenes kezelésekkel párhuzamosan alkalmazott gombaellenes terápia nemcsak a fertőzést szüntetheti meg, hanem lassíthatja a daganat terjedését és javíthatja a betegek túlélési esélyeit.

A projekt eredményeit bemutató grafikus absztrakt:



Vadovics és mtsai 2022 mBio

Created with Biorender.com

Kutatócsoport neve: MTA-SZTE Lendület Oszcillatorikus Neuronhálózatok Kutatócsoport

Vezető kutató: Dr. Berényi Antal

A projekt során elért eredmények bemutatása:

Kutatásaink közös célja olyan új idegrendszeri beavatkozások kidolgozása, amelyek gyorsabb, hatékonyabb és kevésbé invazív terápiát kínálnak epilepsziában, depresszióban és traumához kötött kóros félelem esetén.

Elsőként egy minimálisan invazív, zárt hurkú stimulációs technológiát („ISP”) vizsgáltunk gyógyszerrezisztens epilepsziás betegeknél, ahol az módszer a rohamok saját EEG-jét felhasználva, valós időben avatkozik be. A koponyacsont alá helyezett elektródákkal leadott, rendkívül rövid impulzusok már néhány napon belül jelentős hatást mutattak: a rohamok átlagos hossza több mint felére csökkent, a napi rohamgyakoriság 48–72 órán belül drasztikusan visszaesett, és egyes betegeknél napokra teljes rohammentesség is kialakult. A beavatkozás jól tolerálható volt, súlyos mellékhatás nélkül, ami komoly előrelépés a jelenlegi invazív neuromodulációs eszközökhöz képest.

Egy másik munkában az ISP ingerlés sejtszintű hatásmechanizmusát vizsgáltuk modellezéssel, humán szöveti mérésekkel és idegsejtes elektrofiziológiával. Kimutattuk, hogy az idegsejtek nem a hagyományos elektromos terek egyszerű összeadására reagálnak, hanem a gyors impulzusokat időben integrálják, a membrán sajátos töltésfelhalmozási tulajdonságai révén. Ez magyarázza, hogy az ISP mélyebb agyi régiókat is elérhet a felszíni terhelés növelése nélkül. Patkány epilepsziamodellben az ISP lényegesen hatékonyabb volt a rohamok megszakításában, mint a hagyományos stimuláció, gyorsabb és tartósabb hatást mutatva. Ezek az eredmények új biofizikai alapot teremtenek az ISP-technológia számára, és indokolják klinikai fejlesztését.

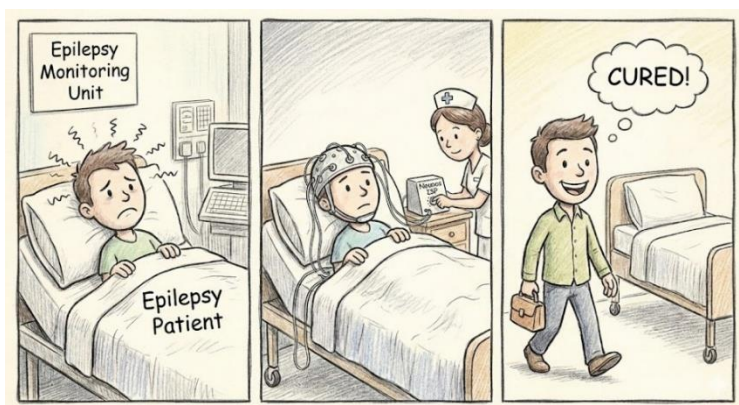
Harmadik kutatásunk a depresszió egyik friss biomarkerének, a gamma-oszcillációk csökkenésének szerepét vizsgálta. Egér- és patkánymodellekben igazoltuk, hogy a gamma-ritmusok meghatározó a limbikus hálózatok normális működésében. Az szaglógumó működésének gátlása vagy a gamma-átvitel blokkolása szorongás- és depresszió-szerű tüneteket váltott ki. Zárt hurkú, fázishelyes stimulációval ezek a tünetek csökkenthetők voltak, míg ellenfázisú beavatkozással tovább romlottak. A munka alapján a depresszió bizonyos formái célzott, ritmus-helyreállító neuromodulációval is kezelhetők lehetnek.

A negyedik publikációnk a traumához kötődő kóros félelem és a poszttraumás stressz zavar (PTSD) új típusú kezelését vizsgálta. A memóriakonszolidáció szempontjából meghatározó hippocampális sharp-wave-ripple (SWR) aktivitás olyan időablakot biztosít, amelyben az agy újraszervezi a félelememlékek hálózati reprezentációját. Vizsgálataink során a félelemkioltás alatt az SWR-ek pillanataiban célzott,

jutalmazó jellegű stimulációt adtunk az agy jutalmazó központjába. Ez a zárt hurkú megközelítés jelentősen felgyorsította a félelem kioltását, és az így módosult emlék hetek múlva is stabil maradt: nem tért vissza új helyzetben, stresszhatás után, vagy spontán módon sem. A módszer nem befolyásolta más, már megtanult viselkedések stabilitását, ami fontos érv a célzott klinikai alkalmazhatóság irányába.

Kutatásaink összességében egy új neuromodulációs irányt körvonalaznak: a valós idejű, személyre szabott, ritmus-érzékeny beavatkozásokét. Ezek az eljárások gyorsabb és hatékonyabb terápiás választ adnak, mint a hagyományos nyílt hurkú vagy kémiai kezelések, és pontosabban célozzák a kóros hálózati aktivitásokat, miközben megkímélik a szervezetet a felesleges terheléstől. Ezek az eredmények olyan klinikai fejlesztések alapját jelentik, amelyek a jövőben valós alternatívát kínálhatnak a jelenlegi idegsebészeti és gyógyszeres terápiák mellett.

A projekt eredményeit bemutató grafikus absztrakt:



Kutatócsoport neve: Agyi Keringés és Metabolizmus Kutatócsoport

Vezető kutató: Dr. Farkas Eszter

A projekt során elért eredmények bemutatása:

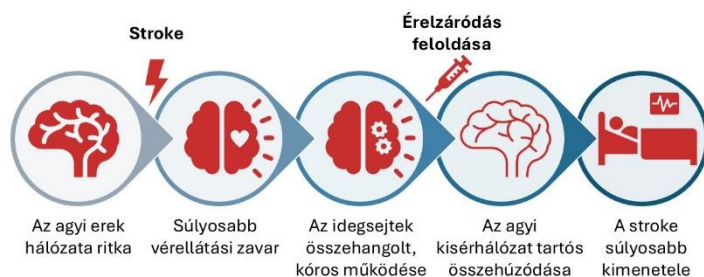
A stroke ma Magyarország egyik leggyakoribb és legsúlyosabb betegsége: évente mintegy 50 ezer embernél jelentkezik, és 25 éves kor felett minden negyedikünket érinti élete során. A betegek döntő többségénél egy agyi ér hirtelen elzáródása okozza a tüneteket, ami az adott agyterület oxigén- és tápanyaghiányához, végül pedig az agyszövet károsodásához vezet.

Az elmúlt években az orvostudomány látványos előrelépést tett: ma már gyógyszeres kezelés vagy katéteres beavatkozás segítségével sok esetben meg lehet nyitni az elzáródott eret. Mégis, a betegek több mint felénél a keringés a sikeres műtét után sem rendeződik úgy, ahogyan várnánk.

Kutatásunk azt vizsgálta, milyen folyamatok akadályozhatják a véráramlás helyreállítását az ér sikeres megnyitását követően. Eredményeink szerint a kulcs az agyszövet tápanyaghiányra adott válaszában rejlik. Amikor az agy egy területe nem jut elegendő oxigénhez, az idegsejtek működése kórosan megváltozik. Hullámszerű “elcsendesedésük” során olyan anyagokat bocsátanak ki, amelyek az agyi kisereket összehúzzák. Ez a szűkület tovább lassítja a véráramlást, ráadásul nemcsak az érelzáródás ideje alatt, hanem annak feloldása után is hosszan elhúzódóan fennmaradhat. Más szóval: az agy hiába kapná újra az érelzáródás feloldása után a vért, az onnan leágazó kiserek még mindig beszűkült állapotban maradnak. A kutatás azt is kimutatta, hogy a stroke kimenetelét az agyi érhálózat felépítése is jelentősen befolyásolja. Ahol sűrűbb az érhálózat, ott a véráramlás könnyebben képes részben megkerülni az elzáródott szakaszt, így ritkábban lép fel az idegsejtek kóros aktivitása és az érösszehúzódás. Más területek azonban sérülékenyebbek, mert kevesebb átkötő érszakasz áll rendelkezésre a vérellátás így az oxigén és a tápanyag pótlására.

Az eredmények azt sugallják, hogy a stroke utáni felépülés nemcsak attól függ, sikerül-e megnyitni az eret, hanem attól is, hogyan reagálnak az idegsejtek és a kiserek a tápanyaghiányra. Ez új terápiás irányokat nyithat: a jövőben elképzelhetővé válhat az erek kóros összehúzódásának célzott, akár személyre szabott gátlása, hogy a véráramlás a kiserek hálózatában valóban helyreállhasson a sikeres érelzáródást feloldó beavatkozást követően.

A projekt eredményeit bemutató grafikus absztrakt:



Kutatócsoport neve: HUN-REN-SZTE Funkcionális Klinikai Genetikai Kutatócsoport

Vezető kutató: Dr. Széll Márta

A projekt során elért eredmények bemutatása:

A modern immunológia egyre inkább felismeri, hogy a keratinociták nem passzív sejtek, hanem aktív érzékelői és irányítói a gyulladásos folyamatoknak. Munkánk célja az volt, hogy feltérképezzük:

- mit érzékelnek a keratinociták a gyulladás korai fázisaiban,
- hogyan kapcsolják be a gyulladás szabályozásának különböző szintjeit, és
- mely molekulák képesek “átírni” a bőr gyulladásos válaszát és fenntartani a kóros folyamatokat.

Pikkelysömörben és más krónikus gyulladásos bőrbetegségekben nagy mennyiségben halmozódnak fel szabad DNS- és RNS-fragmentumok. Ezek a darabok, amelyek származhatnak károsodott sejtekből, neutrofil extracelluláris csapdákból vagy hibás nukleázműködésből, a bőr saját hámsejtjei számára veszélyjelként jelennek meg.

Kísérleteink során szintetikus DNS- és RNS-analógokkal modelleztük ezt az állapotot, és azt találtuk, hogy a keratinociták ezekre rendkívül érzékenyen reagálnak. Már néhány óra alatt jelentősen megnőtt több gyulladásos mediátor, például a CCL2, CXCL10 és a fraktalkin (CX3CL1) kifejeződése. Ezek a kemokinek vonzzák a gyulladás helyére az immunsejteket, így jelzik a szervezetnek, hogy probléma van a bőrben. Eredményeink azt is megmutatták, hogy a kemokinek közül különösen a fraktalkin szinte kizárólag a nukleinsavakra reagál, más klasszikus gyulladásos ingerek (pl. IL-17, IL-23, baktériumok) nem vagy alig növelik a szintjét. Hasonló mintázatot találtunk az IL-23 esetében, amely kulcsszerepet játszik a pikkelysömör immunológiai fenntartásában. A keratinociták nagy mennyiségben kezdték el termelni az IL-23-at, amikor nukleinsavakat érzékeltek, habár hagyományosan nem ezeket a sejteket tekintjük az IL-23 fő forrásának.

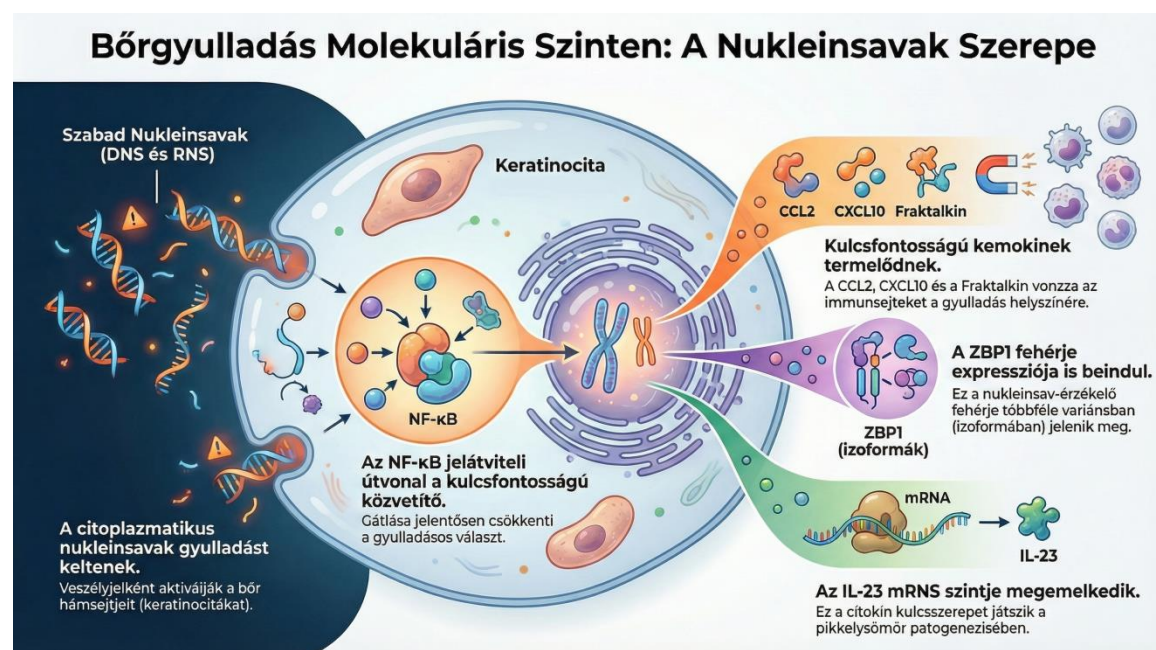
A nukleinsavakkal való találkozást követő gyulladásos válasz egyik legfontosabb lépése az, hogy a keratinociták milyen jelátviteli útvonalakat kapcsolnak be, és ezeken keresztül milyen géneket aktiválnak. Vizsgálataink során egyértelművé vált, hogy a gyulladásos gének kifejeződését döntően az NF- κ B útvonal működése határozza meg. Amint a sejtek érzékelik a citoplazmában megjelenő DNS- vagy RNS-fragmentumokat, ez az útvonal gyorsan aktiválódik, és beindítja a gyulladást elősegítő gének tömeges átírását. Kísérleteink során az NF- κ B gátlása jelentősen mérsékelte a kemokinek termelődését, ami jól mutatja, hogy ez a jelátviteli rendszer a gyulladás „motorjaként” működik. Hasonlóképpen, az IL-23 esetében is meghatározó szerepe van annak, hogy mely receptor továbbítja a nukleinsavak által kiváltott

jelet: eredményeink alapján az RNS-típusú ingerekre érzékeny TLR3 receptor az, amely leginkább felelős az IL-23 kifejeződésének felfutásáért.

A jelátviteli lépések mellett egy másik szabályozási szint is kirajzolódott: az, hogy milyen mRNS splice-variánsok és fehérjeizotípusok jelennek meg a gyulladás során. Míg a fraktalkin esetében az adatbázisok több alternatív splicing-variánst is jeleznek, a keratinocitákban nukleinsav-kezelést követően mindössze egyetlen változat volt kimutatható. Ez azt sugallja, hogy itt a splicing csekélyebb szerepet játszik, és a szabályozás inkább a jelátvitel szintjén történik. Ezzel szemben a ZBP1 esetében éppen az ellenkező mintázatot tapasztaltuk: a normál körülmények között alig kimutatható gén a nukleinsav hatására több ezer-szeresére nőtt, és mind a négy ismert splice-variánsa megjelent a keratinocitákban. Ezek az izoformák eltérő doménszerkezettel rendelkeznek, ami meghatározza, hogy erősítik vagy éppen finomítják a nukleinsav-érzékelést, illetve a gyulladás továbbadását.

Ezek az eredmények együttesen arra mutatnak rá, hogy a keratinociták válasza a szabad nukleinsavakra nem egyetlen „kapcsolón” múlik, hanem több, egymásra épülő szabályozási lépésen. A jelátvitel gyors és erőteljes reakciót biztosít, míg a különböző mRNS- és fehérjevariánsok megjelenése finoman alakítja a gyulladás erősségét és lefolyását. Ez a többrétegű szabályozás lehet az egyik oka annak, hogy a pikkelysömörben tapasztalt gyulladás ilyen tartós és makacs tud lenni: a rendszer több ponton is önfenntartóvá válik, és a hámsejtek maguk is aktív formálói a krónikus gyulladásos környezetnek.

A projekt eredményeit bemutató grafikus absztrakt:



**A kiadvány a TKP2021-EGA-28 számú projekt a
Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási
Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával,
a Tématerületi Kiválósági Program 2021-Egészség
alprogram finanszírozásában valósult meg.**

