

IV. ÉVFOLYAM 3. SZÁM 2012. OKTÓBER

IMMUNOLÓGIAI SZEMLE

NEGYEDÉVENTE MEGJELENŐ
ORVOSTUDOMÁNYI FOLYÓIRAT

IMMUNOLOGY QUARTERLY

ALAPÍTVÁ 2009-BEN

MEDICINA KÖNYVKIADÓ

WWW.MEDICINA-KIADO.HU



Köszöntő

A Magyar Immunológiai Társaság
XLI. Vándorgyűlésének összefoglalói



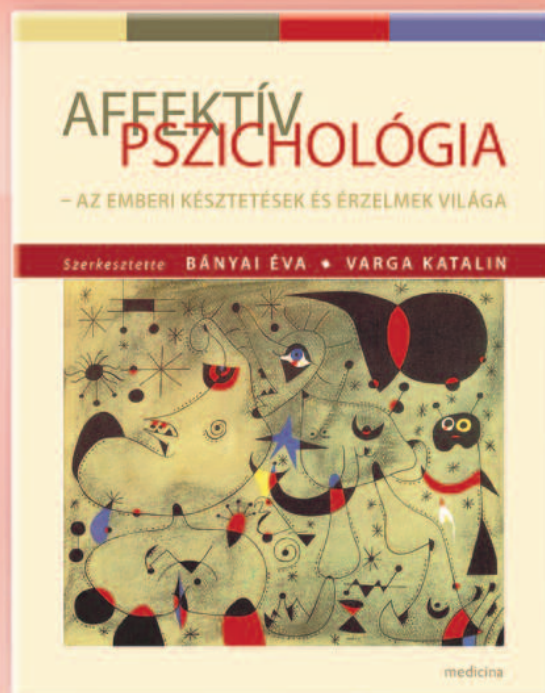
ISSN 2061-0203

A MEDICINA KÖNYVKIADÓ

legújabb kínálatából



Ára: 16 000 Ft



Ára: 8800 Ft



Ára: 6300 Ft



Ára: 7200 Ft

Keresse könyveinket a **honlapunkon** • **www.medicina-kiado.hu**
valamint **márkaboltjainkban**

1091 **Budapest**, Üllői út 91/A. tel.: 36(1)215 3786, 36(1)215 9618 • 1091 **Budapest**, Üllői út 89/C. tel.: 36(1)216 0596
1088 **Budapest**, Baross u. 21. tel.: 36(1)317 0931 • 4032 **Debrecen**, Nagyerdei krt. 98. tel.: 36(52)423 855
7624 **Pécs**, Szigeti u. 12. tel.: 36(72)536 001/1720 • 6720 **Szeged**, Tisza L. krt. 48. tel.: 36(62)420 418

IMMUNOLÓGIAI SZEMLE

NEGyedÉVENTE MEGJelenő
ORVOSTUDOMÁNYI FOLYÓIRAT

IMMUNOLOGY QUARTERLY

ALAPÍTVÁ 2009-BEN • KIADJA A MEDICINA KÖNYVKIADÓ ZRT. • WWW.MEDICINAKIADO.HU

Főszerkesztő

SZEKANECZ ZOLTÁN

Főszerkesztő-helyettesek

CZIRJÁK LÁSZLÓ • KEMÉNY LAJOS • SZÉLL MÁRTA • ZEHER MARGIT

Kiadói szerkesztő

CORNIDES ÁGNES

Szerkesztőbizottság

SZEGEDI GYULA (elnök)

BÁLINT GÉZA • BERKI TÍMEA • BODOLAY EDIT • BUZÁS EDIT • CSABA BÉLA • CSIKI ZOLTÁN • DOBOZY ATTILA • ERDEI ANNA • FALUS ANDRÁS

†FÜST GYÖRGY • GÉHER PÁL • GERGELY PÉTER • GÖMÖR BÉLA • HODINKA LÁSZLÓ • HUDECZ FERENC • HUNYADI JÁNOS • JÁNOSSY TAMÁS

KACSKOVICS IMRE • KISS EMESE • KOVÁCS ATTILA • KOVÁCS LÁSZLÓ • MÓCSAI ATTILA • NAGY GYÖRGY • NAGY LÁSZLÓ

NÉKÁM KRISTÓF • NÉMETH PÉTER • PÉTEK MÁRTA • POÓR GYULA • PROHÁSZKA ZOLTÁN • RAJNAVÖLGYI ÉVA • REMENYIK ÉVA • SÁRMAY GABRIELLA

SÍPKA SÁNDOR • SURÁNYI PÉTER • SZÁNTÓ SÁNDOR • SZEGEDI ANDREA • SZEKERES JÚLIA • SZÜCS GABRIELLA • TAMÁSI LÁSZLÓ • UHER FERENC

International editors / Nemzetközi szerkesztőbizottság

YEHUDA SHOENFELD (Tel-Hashomer, president)

ANN AGER (Cardiff) • GERGELY PÉTER JR (Basel) • GLANT TIBOR (Chicago) • ALISA E. KOCH (Ann Arbor) • LAKOS GABRIELLA (Chicago)

MIKECZ KATALIN (Chicago) • THOMAS PAP (Münster) • PERL ANDRÁS (Syracuse) • SZODORAY PÉTER (Oslo)

PAUL-PETER TAK (Amsterdam) • JOHN VARGA (Chicago)

A Magyar Immunológiai Társaság hivatalos lapja

Szerkesztőség/kiadó: Medicina Könyvkiadó Zrt.

1072 Budapest, Rákóczi út 16.

Postacím: 1245 Budapest 5, Pf. 1012

Telefon: (1) 331 0781, (1) 312 2650; fax: (1) 312 2450;

e-mail: medkiad@euroweb.hu

ISSN 2061-0203

Egyéni előfizetési díj egy évre bruttó 2800 Ft.

Előfizetéssel kapcsolatos információt kereskedelmi osztályunk

munkatársai adnak: **DURÁN ÁGNES, EKKER GYÖRGY**

e-mail: kerosztaly@medicinazrt.hu

A kiadásért felel: **FARKASVÖLGYI FRIGYESNÉ** vezérigazgató

Borítóterv, tipográfia: **BEDE TAMÁSNÉ**

Nyomdai előkészítés: **GAR-WIND Bt.**

Minden jog fenntartva. A folyóiratban megjelent valamennyi eredeti írásos és képi anyag közlési joga a szerkesztőséget illeti. A megjelent anyagnak – vagy egy részének – bármely formában való másolásához, felhasználásához, ismételt megjelentetéséhez a szerkesztőség írásbeli hozzájárulása szükséges.

Nyomdai munkálatok: **Pauker Nyomdaipari Kft., Budapest**

Felelős vezető: **VÉRTESS GÁBOR** ügyvezető igazgató

Tartalom

KÖSZÖNTŐ / INTRODUCTION 3

Kemény Lajos, Széll Márta, Szekanecz Zoltán

KONGRESSZUSI ÖSSZEFOGLALÓK / CONGRESS ABSTRACTS 4

A Magyar Immunológiai Társaság 41. Vándorgyűlésének összefoglalói / Abstracts of the 41st Annual Meeting of the Hungarian Society for Immunology

IN MEMORIAM / IN MEMORIAM 47

Dr. Füst György (1937. november 14. – 2012. július 5.)

A Semmelweis Egyetem III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Kutató Laboratórium közvetlen munkatársai

Szeretettel köszöntjük a MIT 41. Vándorgyűlésének résztvevőit és minden kedves Olvasónkat!



Széll Márta



Kemény Lajos

szegedi kongresszusunkhoz hasonlóan, félnapos, referátumokból álló továbbképzést szervezünk. Az ekkor elhangzó

Kedves Kollégák!

Nagy szeretettel várunk mindenkit a „Kálvinista Rómába”, Debrecenbe, hogy 2012. október 17–19. között három remélhetőleg szép és tartalmas napot együtt töltsünk a Magyar Immunológiai Társaság 41. vándorgyűlésén. Az előadások helyszíne a Kölcsey Központ bálterme lesz.

A kongresszus fő témája: „Terápiás célpontok immunmediált betegségekben”. Ez a cím talán jól tükrözi, hogy mind az elméleti, mind az alkalmazott immunológia legújabb eredményeit a jelen és a jövő terápiás lehetőségeinek szintjén igyekszünk közös platformra hozni.

A MIT kongresszusok megszokott formátuma mellett az első napon, a két évvel ezelőtti

előadások a fenti főtémához illeszkednek, formailag pedig az egy elméleti-egy terápiás előadáspárból álló „tandem struktúrát” követik. Reményeink szerint az első napi továbbképzés a MIT kongresszusok rendszeres résztvevői mellett a hallgatók, rezidensek, szakorvosjelöltek érdeklődésére is számot tarthat majd.

A kongresszus második és harmadik napján, a megszokott formában és remélhetőleg színvonalon, a benyújtott absztraktok alapján kiválasztott előadások és poszterek kerülnek bemutatásra.

Reméljük, hogy a MIT 41. vándorgyűlése minden résztvevő számára szakmai feltöltődést jelent majd. Emellett azon leszünk, hogy kapcsolatok kialakítására, ápolására, kellemes társasági programokra is sor kerülhessen majd. A jó hangulathoz egy nyitó fogadással és egy táncbemutatóval tarkított vacsorával igyekszünk hozzájárulni.

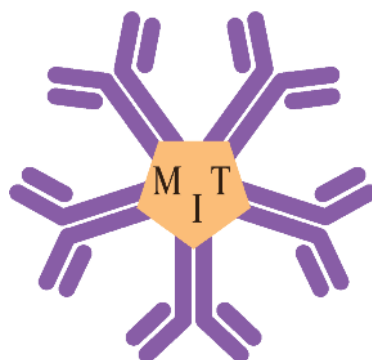
Mindenkit szeretettel várunk Debrecenbe!

Baráti üdvözléssel:

Kemény Lajos, Széll Márta és Szekanecz Zoltán



Szekanecz Zoltán



A Magyar Immunológiai Társaság 41. Vándorgyűlésének összefoglalói

Az előadások és posztterek absztraktjait az első szerző neve alapján ábécérendben mutatjuk be.

A SLAMF1- ÉS SLAMF5-RECEPTOROK SZEREPE A CD40- ÉS TLR-INDUKÁLT SZIGNÁLOK MODULÁCIÓJÁBAN HUMÁN DENDRITIKUS SEJTEK BEN

AGOD ZSÓFIA, BARÁTH MÓNICA, LÁNYI ÁRPÁD

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Immunológiai Intézet, Debrecen

Bevezetés. A SLAM (signaling lymphocytic activation molecule) receptorcsalád tagjai myeloid és lymphoid sejteken egyaránt expresszálódó, homoasszociációra képes koreceptorok. Fontos szerepet töltenek be a T-sejtek és myeloid sejtek citokintermelésének szabályozásában, a T-sejt-függő humorális immunválaszban, az NK-sejt-mediált cytotoxicitásban és az NKT-sejtek fejlődésében. Az 1q23 régióban található SLE-re hajlamosító lókuszt (Sle1b) magába foglalja a SLAM család génjeit. A receptorcsaládot érintő nagyfokú polimorfizmus és alternatív splicing szerepet játszik az SLE-re való fogékonyságban. A myeloid dendritikus sejteken (mDC) magasán expresszálódó SLAMF1 és SLAMF5 mDC-funkciókra kifejtett szerepe kevésbé ismert. Jelen munkánkban a SLAMF1 és a SLAMF5 TLR- és CD40-receptorokon keresztül jelátvitelre gyakorolt hatását vizsgáltuk myeloid dendritikus sejtekben.

Módszerek. Humán monocytaeredetű dendritikus sejteken differenciációjuk 2. napján géncsendesítéssel (siRNA transzfecciójával) gátoltuk a SLAMF1- vagy SLAMF5-receptor expresszióját. Kontrollként mutáns oligonukleotidával transzfecciózt használtunk. A differenciáció 5. napján különböző Toll-like receptor (TLR) ligandumokkal vagy szolubilis CD40 ligandummal (sCD40L) aktiváltuk a sejteket, majd áramlási citometriával, valamint ELISA segítségével vizsgáltuk a SLAM-receptorok jelenlétében és hiányában mérhető aktivációs markerek, valamint proinflammatorikus citokinek mennyiségét. Western-blottal ellenőriztük az NF- κ B- és MAPK-út vonalak tagjainak foszforilációs állapotát, hogy meghatározzuk, mely jelátviteli útvonalakra hatva képesek a SLAM-receptorok regulálni a dendritikus sejtek citokintermelését.

Eredmények. Eredményeink szerint poly(I:C)-, CL075- vagy sCD40L-kezelés következtében a SLAMF1- vagy SLAMF5-hiányos dendritikus sejteken magasabb az aktivációs markerek expressziója (CD80, CD83, CD86), és több proinflammatorikus citokint (TNF α , IL-12) termelnek a kontrollhoz viszonyítva. Ezzel ellentétben, LPS-kezelés hatására SLAMF1 vagy SLAMF5 hiányában a DC-k kevesebb proinflam-

matorikus citokint termelnek. SLAMF1 vagy SLAMF5 hiányában a p38 MAPK csökkent foszforilációja figyelhető meg mind poly(I:C), mind LPS hatására.

Következtetések. Eredményeink arra utalnak, hogy a SLAMF1- és SLAMF5-receptor hasonlóan szabályozza a TLR és CD40 útvonalakat. Mindkét receptor képes gátolni a poly(I:C)-, CL075- és CD40-indukált DC-aktivációt, valamint a többi TLR ligandumtól eltérően, fokozni a DC-k LPS-indukált citokintermelését. Mind a SLAMF1, mind a SLAMF5 szükséges a poly(I:C)- valamint LPS-indukált optimális p38-aktivációhoz.

AZ ALLERGÉNSPECIFIKUS IMMUNTERÁPIA HATÉKONYSÁGÁNAK KÉRDÉSEI: A RENDSZERBIOLÓGIAI HATÁSMECHANIZMUSTÓL A BETEG-EGYÜTTMŰKÖDÉSIG

ANTAL PÉTER¹, MOLNÁR VIKTOR², KOZMA T. GERGELY², NAGY ADRIENNE², MILLINGHOFFER ANDRÁS¹, BERTA ANDRÁS², BÁLINT L. BÁLINT¹, NAGY LÁSZLÓ¹, SZALAI CSABA²

¹Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Debrecen

²Csertex Kft., Debrecen

Az allergénspecifikus immunterápia (SIT) allergéntől függő változó hatásossága, és a még inkább változó, beteg-együttműködéstől is függő eredményessége kérdések sorát veti fel beteg, orvos, kutató és finanszírozó számára is. A SIT hatékonyságának vizsgálatára irányul a DesensIT projekt, amely a betegek genetikai és pszichológiai adataira, az éves-hónapos felbontású genomikai, immunológiai, klinikai adataikra, napi-órás felbontású gyógyszerhasználati, tüneti adataikra, illetve pollen-terhelési, meteorológiai és légszennyezetségi adatsorokra is támaszkodik. Előadásunkban bemutatjuk a különböző időskálán és absztrakciós szinteken elhelyezkedő adatok kapcsolódását, kiemelve a szakirodalomban elterjedt klinikai végpontokat. Az adatok gazdagsága lehetővé teszi az immunterápia hatásmechanizmusának rendszerbiológiai és oki modellezését, amihez összefoglaljuk a felhasználni kívánt statisztikai eszköztár fogalmait és annak viszonyát a többszörös hipotézisteszteselés problematikájával. Végezetül vázoljuk a komplex adatokra támaszkodó rendszerbiológiai modell és a szűkebb, csak kezelés előtti adatokra támaszkodó döntéstámogató modell kapcsolatát, amely kapcsolat megértése tanulságokkal szolgál a hiányzó örökletesség problematikájának és egy lehetséges feloldásának a megértésében is.

A 8-OXOGUANIN-DNS-GLIKOZILÁZ-1 (OGG1) KIFEJEZŐDÉSÉNEK GÁTLÁSA A LÉGÚTI HÁMSZÖVETBEN CSÖKKENTI AZ ALLERGIÁS GYULLADÁS MÉRTÉKÉT

BÁCSI ATTILA¹, AGUILERA-AGUIRRE LEOPOLDO², BARTOSZ SZCZESNY², SUR SANJIV², BA XUEQING², TISZA ÁKOS¹, RAJNAVÖLGYI ÉVA¹, BOLDOGH ISTVÁN²

¹Debreceni Egyetem, Immunológiai Intézet, Debrecen

²University of Texas Medical Branch, Department of Microbiology and Immunology, Galveston, USA

Bevezetés. Az allergiás légúti gyulladást a proinflammatoricus mediátorok fokozott termelődése, sejtes infiltráció, a nyálkahártya fokozott szekréciója és a légutak fokozott válaszkészsége jellemzi, továbbá oxidatív DNS-bázis- és -szálkárosodások, amelyeknek etiológiai szerepe ismeretlen. Kutatásunk célja az volt, hogy feltérképezzük a 8-oxoguanin (8-oxoG), mint a leggyakrabban előforduló oxidálódott DNS-bázis, és javító enzimének, a 8-oxoguanin-DNS-glikoziláz-1 (OGG1) fehérjének szerepét az allergiás légúti gyulladással járó folyamatokban.

Módszerek. A légúti gyulladást intranasalisán bejuttatott parlagfű (*Ambrosia artemisiifolia*) pollenkivonattal váltottuk ki szentizált BALB/c egerekben. A légúti hámsejtekben található OGG1 expresszióját siRNA technikával gátoltuk, a 8-oxoG-szintet és a DNS-szál-törések számát Comet-esszével határoztuk meg. A gyulladással járó sejtes infiltrációját és az epithelialis sejtek metaplasziáját szövettanilag, a nyák- és citokinszekréciót biokémiai módszerekkel vizsgáltuk, a fokozott légúti érzékenységet a Penh-értékkel mértük.

Eredmények. A csökkent OGG1-expresszió, és ennek következtében a csökkent 8-oxoG-javítás alacsonyabb gyulladással járó választ eredményezett a pollenkivonattal történő kezelést követően, amit a Th2-citokinek mennyisége, az eosinophilia, az epitheloid metaplasia és a fokozott légúti érzékenység meghatározása alapján igazoltunk. Ezzel ellentétben az OGG1-et expresszáló hámsejtek esetén a pollenkivonattal történő kezelés növelte az egyszálú DNS-törések számát, és intenzív allergiás gyulladást eredményezett.

Következtetések. A kapott eredmények azt mutatják, hogy a 8-oxoG kijavításakor keletkező egyszálú DNS-törések fel erősítik az antigén által kiváltott allergiás immunválaszt. Az OGG1-expresszió, ill. aktivitás átmeneti megváltoztatása hasznos lehet az allergiás betegségek kezelésében.

A MÁTRIX METALLOPROTEINÁZOK EXPRESSZIÓJÁNAK ÉS FUNKCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA DENDRITIKUS SEJTEKBEN

BACSKAI ILDIKÓ¹, MÁZLÓ ANETT¹, GOGOLÁK PÉTER¹, SZATMÁRI ISTVÁN², RAJNAVÖLGYI ÉVA¹, KIS-TÓTH KATALIN¹

¹Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Immunológiai Intézet

²Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

Bevezetés. A mátrix metalloproteinázok (MMP-ok) olyan cinkfüggő endopeptidázok, amelyek a kollagéntartalmú szövetek, elsősorban az extracelluláris mátrix folyamatos megújításában és átalakításában, valamint a sejtek migrációjában játszanak szerepet. A szöveti MMP-inhibitorok (TIMP-ok) természetes gátlószerei az MMP enzimeknek. Az MMP-TIMP rendszer finom szabályozásában bekövetkező kedvezőtlen változások patológiás állapothoz vezethetnek. A dendritikus sejtek (DC-k) alapvető szerepet játszanak az immunrendszer mozgósításában, valamint a természetes és szerzett védelmi rendszerek összehangolt működésének irányításában. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy a DC-k MMP-eket és TIMP-eket is termelnek, amelyek szerepet játszanak ezen sejtek migrációjának szabályozásában.

Módszerek. Kísérleteinkben humán monocytákból in vitro differenciált DC-k és alpopulációk MMP- és TIMP-expressziójának szisztematikus vizsgálatát végeztük el génszinten kvantitatív PCR- és fehérjeszinten ELISA-módszer segítségével, valamint a GM6001 szintetikus inhibitor hatását vizsgáltuk az MMP-k és TIMP-ek kifejeződésére, az enzimek funkcióira, és az MMP9 szekréciójára.

Eredmények. Kimutattuk, hogy a monocyták nem fejeznek ki MMP-eket, TIMP1 és TIMP2 géneket viszont nagy mennyiségben. A monocytákból differenciált DC-k MMP9- és MMP12-expressziója növekszik a differenciálódási folyamat során, és ezzel párhuzamosan a TIMP1- és TIMP2-expresszió csökken. Az MMP9 gént elsősorban a CD1a⁺ DC alpopuláció, míg az MMP12 gént a CD1a⁺ sejtek fejezik ki. Eredményeinket az MMP9 esetében a szekretált enzim mennyiségének vizsgálataival is megerősítettük. Kimutattuk, hogy a GM6001-inhibitor nem befolyásolja a DC-k fenotípusát és az MMP-k és a TIMP-ek expresszióját, de a szekretált MMP-k inaktivációján keresztül gátolja a sejtek migrációját.

Következtetés. Eredményeink alapján az MMP-k és TIMP-ek expressziója és szekréciója eltér a DC-k különböző alpopulációjában, és a GM6001 szintetikus inhibitor a DC-k fenotípusának befolyásolása nélkül képes az MMP-k funkciójának gátlására. Reményeink szerint eredményeinkkel hozzájárulunk az MMP-TIMP rendszer jobb megismeréséhez DC-kben, illetve a GM6001 szintetikus inhibitor klinikai felhasználhatóságának részletesebb megismeréséhez.

A ZEBRADÁNIÓ (DANIO RERIO) PRIMER ÉS SZEKUNDER NYIROKSZÖVETI SEJTJEINEK JELLEMZÉSE ENZIM- ÉS LEKTINHISZTOKÉMIAI MÓDSZEREKKEL

BALASSA TÍMEA^{1,2}, ENGELMANN PÉTER¹, NÉMETH PÉTER², SZEKERES GYÖRGY²

¹PTE-KK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

²Hisztopatológia Kft., Pécs

A zebradánió legjelentősebb nyirokszövetként funkcionáló szervei a thymus, a (fej)vese és a lép. Felnőtt halaknál a fejvesében történik a haematopoesis, tehát itt képződnek a veleszületett immunitás sejtjei, a keringő leukocyták, valamint az adaptív immunitás effektorsejtjei, a lymphocyták. Jelen tanulmányunkban elérhető, a zebradánió lymphoid szöveteire specifikus monoklonális ellenanyagok hiányában enzim- és lektinhisztokémiai módszerekkel vizsgáltuk a haemopoeticus sejtek tulajdonságait. A vese és a lép izolálását követően sejtszuspenziót készítettünk. Különböző enzimek (nem specifikus észteráz, savas foszfatáz, alkalikus foszfatáz) aktivitását citopreparátumon vizsgáltuk. A nyirokszövetek sejtösszetételét áramlási citometriás mérésekkel analizáltuk. Az izolált haematopoeticus sejteket PNA- (peanut agglutinin) lektin jelöléssel karakterizáltuk. Lektinhisztokémiai festést lépéből, illetve veséből készített fagyasztott metszeten is végeztünk. Mind a vese, mind a lép vizsgálata során a myeloid sejtek-nél tapasztaltunk erőteljes savas foszfatáz enzim-aktivitást.

Áramlási citometriás mérésekkel sejtpopulációkat különítettünk el méret és granuláltság alapján: erythroid, myeloid és lymphoid sejteket. PNA-lektinnel elsősorban a myeloid sejtpopuláció mutatott festődést, kisebb mértékű pozitívítást tapasztaltunk a lymphoid sejtekenél, az erythroid sejtek pedig negatívak voltak. A lép kriosztatós metszetén végzett PNA-jelölés erősen pozitív volt. A myeloid sejtek savas foszfatáz enzimaktivitása igazolhatja a veleszületett immunitásban betöltött szerepüket (patogénnel szembeni védelem, aggregáció). Jövőbeni célunk a zebradánió lymphoid szöveteire specifikus monoklonális ellenanyagok előállítására és a haemopoeticus sejtek tulajdonságairól szerzett ismeretek kibővítése.

„OUTLIER” IDŐ-AKTIVITÁS GÖRBÉK KIZÁRÁSA FAGOCITA-AKTIVITÁS MÉRÉSEK ÉS REGULÁTORIKUS T-SEJT (TREG) SEJTNYÉSZETEK ESETÉBEN

BARÁTH SÁNDOR¹, PAPP BALÁZS², LENGYEL RÓBERT¹, CSÍPÓ ISTVÁN¹, SÍPKA SÁNDOR¹, ZEHER MARGIT¹

¹DE OEC, Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológia Tanszék, Debrecen

²Evolúciós Rendszerbiológiai Műhely, MTA Szegedi Biológiai Központ, Szeged

A természettudományok területén számos esetben találkozhatunk azzal a problémával, hogy idő-aktivitás görbékről kell

megmondanunk, mennyire „párhuzamosak”, vagyis, hogy a görbék elég „közel” vannak-e egymáshoz ahhoz, hogy kijelenthessük, statisztikailag egy „populációból” származnak. Ilyen eset például a sejttenyészetek növekedési görbéinek vizsgálata, vagy a laboratóriumunkban fagocitaaktivitás mérésére alkalmazott kemilumineszcens módszer görbéinek analízise. A görbe teljes adatsorának összehasonlítása a legtöbb esetben nem kivitelezhető a hagyományos statisztikai módszerekkel. Gyakran egy adott mérési pont, vagy a görbének csak egy bizonyos szakasza képezi csupán az elemzés tárgyát. A teljes mérési adatsor összehasonlítása során olyan statisztikai próbák lelhetők fel az irodalomban, mint a runstest vagy a randomizációs ún. „bootstrap” módszer, illetve dózis-hatás görbék elemzéséhez a hagyományos próbák (Mann-Whiney, Kolmogorov-Smirnov) általánosításai, amelyeket valamilyen randomizációs algoritmusba ágyaztak. Fagocitaaktivitás mérések és Treg sejttenyészetek idő-aktivitás görbéinek elemzése, pontosabban a párhuzamos mérések eredményeinek értékelése során merült fel az igény, hogy a mérési eredmények „párhuzamosságának” meghatározásához olyan módszert keressünk, amely nem igényli konkrét függvény illesztését a mérési adatokra. Tehát a görbe alakjától független, de a módszer sajátosságaiból adódó hibák ismeretében segíti a döntéshozatalt. Kidolgoztunk egy algoritmust, amely az azonos mérési időpontokhoz tartozó mérési adatok közelsége, valamint a görbemeredekségek különbsége és a módszer szórása alapján alkalmas lehet az „outlier” görbék kizárására. Minthogy a mérési adatok (mint nagyon sok kutatonál) egy-egy Excel-fájlban tárolódnak, az algoritmus alapján készítettünk egy Excel-bővítményt (add-in), amellyel elvégezhető a kijelölt görbék összehasonlítása. Úgy véljük, hogy hasonló problémával sok területen találkozhatunk, ezért egy olyan algoritmus, illetve alkalmazás, amely segíti a fent említett esetekben a döntéshozatalt, sok kutató számára nyújthat segítséget.

ARYL HYDROCARBON RECEPTOR AGONISTA ÉS ANTAGONISTA ANYAGOK HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA LIMFOCITÁK IL-17-TERMELÉSÉRE

BARICZA ESZTER¹, BUZÁS EDIT¹, NAGY GYÖRGY^{1,2}

¹Semmelweis Egyetem, Genetikai-, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

²Budai Irgalmasrendi Kórház, Budapest

Bevezetés. A dioxinreceptornak is nevezett aryl hydrocarbon receptor (AHR) citoszolikus helix-loop-helix típusú transzkripciós faktor, ami fontos szerepet játszik a toxikus anyagok metabolizmusában. Az AHR-t valamennyi CD4+ T-lymphocytá expresszálja (naiv T-sejtek, memória T-sejtek, Th1-, Th2-, Th17- és Treg-sejtek) kis mennyiségben, azonban expresszió-

jának szignál hatására történő növekedése a Th17-sejtekre jellemző. Az AHR ligandjai közé tartozik a benzo[a]pyren (B[a]P) és a 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), amelyek a dohányfüst komponensei. Irodalmi adatok szerint a dohányzás az ún. „shared epitóp” hordozókban jelentősen emeli a rheumatoid arthritis (RA) kialakulásának kockázatát. Az autoimmunintás kialakulásában az IL-17-et termelő Th17-sejteknek fontos szerepe van. Ma még nem ismert, hogy a dohányzás miként fejti ki RA-ra hajlamosító hatását.

Módszerek. Vizsgálatunk során egészséges kontrollok perifériás véréből mononukleáris sejteket (PBMC) izoláltunk Ficoll-gradiensén. A sejteket AHR-agonista B[a]P és TCDD, vagy AHR-antagonista 2-methyl-2H-pyrazole-3-carboxylic acid (2-methyl-4-o-tolylazo-phenyl)-amide (CH-223191) kezelést követően anti-CD3 antitesttel aktiváltuk. A sejtek IL-17-termelését IL-17 ELISPOT módszerrel határoztuk meg. Az eredményt CTL ImmunSpot programmal értékeltük ki. A kezelések viabilitásra kifejtett hatását tripánkéék festés és áramlási citometriás Annexin V-PE kötődés alapján mértük. A mérést FACS Calibur készülékkel, a kiértékelést Flojo programmal végeztük. Az eredményeket GraphPad Prism statisztikai programmal elemeztük, az eredményeket $p < 0,05$ értéknél tekintettük szignifikánsnak.

Eredmények. Eredményeink szerint mind az AHR-agonista, mind az -antagonista anyagok csökkentik a PBMC-sejtek IL-17-termelését CD3-aktiváció hatására. Mindhárom AHR ligand koncentrációjától és az alkalmazott anti-CD3 mennyiségétől függő hatást tapasztaltunk. A sejtek IL-17-termelése $0,75 \mu\text{g/ml}$ CD3-koncentrációnál volt a legmarkánsabb, amely értéket valamennyi anyag szignifikánsan csökkentette amellet, hogy az alkalmazott koncentrációkban egyik sem befolyásolta a sejtek viabilitását. Következtetések: Az AHR Th17-differenciációban betöltött szerepét számos irodalmi adat támasztja alá. Eredményeink alapján az AHR szerepet játszhat az IL-17-termelés szabályzásában, amely citokin jelenléte RA-ban jellemzően magas. További célunk az AHR pontosabb funkciójának megismerése, a dohányzás, mint epigenetikai tényező hajlamosító szerepének tisztázása az RA patomechanizmusában.

A KERATINOCYTÁK ÁLTAL TERMELT SZOLÚBILIS TL1A CITOKIN FELHALMOZÓDÁSA PIKKELYSÖMÖRÖS LAESIÓKBAN

BEBES ATTILA¹, VAS KRISZTINA¹, BATA-CSÖRGŐ ZSUZSANNA¹, KEMÉNY LAJOS¹, SZÉLL MÁRTA², TUBAK VILMOS³

¹Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

²MTA Dermatológiai Kutatócsoport, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

³Creative Laboratory Kft., Szeged

A tumornekrózisfaktor-alfa- (TNF-alfa-) szerű citokin (TL1A) és receptora, a death receptor 3 (DR3) meghatározó szerepet

játszanak a gyulladásos immunválasz modulációjában. Számos sejttípusról, többek között endothelsejtekről, makrofágokról és dendritikus sejtekről ismert, hogy megfelelő indukciót követően TL1A fehérjét termelnek. A DR3-receptor aktivált T-sejteken jelenik meg, a sejtek proliferációját és citokin-termelését szabályozza. A TL1A és a DR3 funkciója rheumatoid arthritis és a gyulladásos bélbetegség patogenezisében is nagy jelentőségű.

Célunk a TL1A mRNS és fehérje kifejeződésének vizsgálata volt tenyésztett humán keratinocytákban, valamint a krónikus gyulladással járó pikkelysömörben tanulmányoztuk a TL1A és a DR3 fehérjék expresszióját.

Eredményeink szerint a TL1A mRNS TNF-alfa által indukálható módon fejeződik ki tenyésztett keratinocytákban. Western-blot vizsgálataink alapján a TL1A fehérje a sejtekben alig detektálható, ellenben a keratinocyták felülcsúszójában nagy mennyiségben halmozódik fel. Egészséges epidermishez képest jelentősen emelkedett a TL1A gén kifejeződése pikkelysömörös betegek laesiós epidermisében. Nagymértékű TL1A fehérje felhalmozódás volt jellemző pikkelysömörös laesiós dermisben, ahol a DR3 receptor expresszióját is számos sejten megfigyeltük.

Feltételezésünk szerint az epidermalis keratinocyták fontos szerepet játszanak a pikkelysömörös laesiókban megfigyelt emelkedett TL1A citokin szint kialakításában, amely a T-sejteken kifejeződő DR3-receptoron keresztül hozzájárulhat a krónikus gyulladás fenntartásához.

RETINSAV JELENLÉTÉBEN DIFFERENCIÁLÓDÓ HUMÁN MONOCYTAEREDETŰ DENDRITIKUS SEJTEK VÁLASZA

BENE KRISZTIÁN¹, GREGUS ANDREA¹, BOYKO NADIYA², RAJNAVÖLGYI ÉVA¹

¹Immunológiai Intézet, Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Debrecen

²Department of Microbiology, Immunology, Virology and Aetiology of Infectious Diseases, Medical Faculty, Uzhorod National University, Uzhorod, Ukraine

Korábbi eredményeink szerint a monocytákból in vitro előállított humán dendritikus sejtek (moDS) fenotípusos és funkcionális sajátosságai alapján CD1a+ proinflammatoricus és CD1a- antiinflammatoricus sejtekké nevelhetők és megfelelő környezeti hatások mellett a bélrendszerre jellemző CX3CR1+ és CD103+ fenotípusú sejtekké differenciálthatók. Azt is igazoltuk, hogy a bél mikrokörnyezetére jellemző all-transz-retinsav (ATRA) A-vitaminból történő képződését elősegítő enzimeket a moDS-ek kifejezik. Célunk olyan kísérleti rendszer beállítása volt, amely alkalmas a bélben működő, toleranciát fenntartó, humán moDS-ek által közvetített mechanizmusok in vitro vizsgálatára.

A monocyták izolálása humán vércsúszmányból, gradi-

enscentrifugálást követő CD14 antitesthez kötött mágneses gyöngy alapú szeparációval történt. A monocytákat 100 ng/ml IL-4, 80 ng/ml GM-CSF jelenlétében differenciáltattuk ATRA jelenlétében vagy hiányában. A 2. napon a moDS-eket kommenzális bélbaktériumokkal (*E. coli* Schaedler, *E. coli* 058, *M. morganii*, *B. subtilis*) vagy PRR-ligandumokkal [250 ng/ml LPS; 10 µg/ml poly(I:C)] aktiváltuk, majd 24 óra után a sejtek sajátságait FACS-technikával jellemeztük (CD1a, CD83, DC-SIGN, 7-AAD). A baktériumok által kiváltott moDS-aktiváció mértékét a termelt citokinek koncentrációja alapján ELISA-módszerrel is meghatároztuk. Az aktivációs folyamatban részt vevő gének kifejeződését ABI StepOnePlus rendszerben mértük.

A vizsgált kommenzális baktériumok hatására a moDS-ek felszínén nőtt a CD83 aktivációs marker kifejeződése és nem toxikus koncentrációjú ATRA (10⁻⁹M) jelenlétében a differenciálódó CD1a⁺ moDS-ek aránya csökkent, amit a bakteriális stimulus nem befolyásolt. Az aktivált moDS-ek által termelt proinflammatoricus citokinek közül az IL-1 β szekréciójának szintje pozitív korrelációt mutatott a monocytákhoz adott ATRA növekvő koncentrációjával. A humán és egér bélflórából izolált *E. coli* törzsek az ATRA jelenlétében differenciált moDS-ekben erőteljes IL-12- és IL-10-termelést váltottak ki, míg a Gram-pozitív *B. subtilis* rendelkezett a legalacsonyabb proinflammatoricus citokintermelést kiváltó hatással. Gén-expressziós eredményeink szerint a virális antigéneket érzékelő RIG-I és MDA5 helikázok, a PPAR γ és RAR α ligandindukált magreceptorok, valamint a NOD2 intracelluláris érzékelő fehérje a bélbaktériumok jelenlétében aktiválódott. ATRA hatására a RIG-szerű helikázok, a PPAR γ és a RAR α , valamint a NOD2 expressziós szintje csökkent, míg az inflammaszómák kialakításában szerepet játszó NLRP12 és NLRC4 expressziója nőtt.

A humán moDS-ek alkalmasak olyan in vitro kísérleti rendszer létrehozására, amely modellezi a bélben zajló moDS-differenciálódási folyamatot, illetve a természetes immunrendszer választ a kommenzális bélflóra egyes összetevőivel szemben, amit a jelen lévő retinsav jelentősen módosít.

A REGULATÓRIKUS T-SEJTEK GLUKOKORTIKOID HORMON ÉRZÉKENYSÉGÉNEK VIZSGÁLATA EGÉRMODELLEN

BERKI TIMEA, UGOR EMESE, ENGELMANN PÉTER, NÉMETH PÉTER, BOLDIZSÁR FERENC

Pécsi Tudományegyetem, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

A saját struktúrákkal szembeni tolerancia fenntartása és az immunválasz szabályozása számos mechanizmus együttműködésének eredménye. Ezek közül a fiziológiásan is termelődő, de terápiásan is alkalmazott glukokorticoid hormon (GC)

és a regulatórikus T-sejtek (Treg) kölcsönhatása kevésbé ismert. Munkánk célja a GC-kezelés szerepének vizsgálata a természetes és indukált Treg-sejtek differenciálódásában, túlélésében és működésében.

Kísérleteinkhez 4–6 hetes Balb/c egereket különböző ideig (1–4 nap) kezeltünk 20 mg/kg GC-analóggal (dexamethasoneDX), majd vizsgáltuk az állatok vérében, thymusában, nyirokcsomóiban, lépében és Peyer-plakkjaiban a természetes és indukált Treg-sejtek eloszlását áramlási citometriás fenotípusanalízissel. Ehhez a sejteket anti-CD4, anti-CD25 sejt-felszíni és intracelluláris anti-Foxp3 és HELIOS antitestekkel jelöltük. A sejtek glukokortikoidreceptor- (GR-) expresszióját szintén intracelluláris anti-GR-FITC jelöléssel analizáltuk.

Azt tapasztaltuk, hogy a kezeletlen állatok thymusában GC-kezelés hatására az eredetileg 1–2% természetes Treg-sejt-arány akár 9%-ra is emelkedhet. Ez azzal magyarázható, hogy a GC-érzékeny kettős pozitív thymocyta pusztulása miatt viszonylagosan nő meg a Treg-sejtek aránya, vagyis azok nem, vagy sokkal kevésbé érzékenyek a GC-indukált apoptózisra. A perifériás nyirokszervekben, elsősorban a mesenterialis nyirokcsomókban és Peyer-plakkokban sokkal magasabb az indukált Treg-sejtek aránya, mint a természetes Treg-sejteké. A Treg-sejtek GC hormon rezisztenciájának molekuláris mechanizmusára azok eltérő GR-expressziója lehet az egyik magyarázat.

Munkánkkal adatokat kívánunk gyűjteni egy későbbi in vitro Treg-sejt-expanziós sejt-kultúra rendszer kialakításához, amely új lehetőséget adhat autoimmun betegségek, transzplantáción átesett betegek célzott antigénspecifikus terápiájához.

A GALECTIN-1 SZEREPE SZISZTÉMÁS LUPUS ERYTHEMATOSUSBAN

BOCSKAI MÁRTA¹, DEÁK MAGDOLNA¹, NOVÁK JULIANNA², CZIBULA ÁGNES², FAJKA-BOJA ROBERTA², KOVÁCS LÁSZLÓ¹, MONOSTORI ÉVA²

¹Szegedi Tudományegyetem, ÁOK Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Reumatológiai Klinika

²MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Szeged

Bevezetés. A galectin-1 (Gal-1) immunszuppresszív hatású fehérje. Fontos szerepet tölt be a T-sejt-homeosztázis fenntartásában azáltal, hogy az aktivált Th1-sejtek citokintermelését gátolja és azok apoptózisát indukálja. Korábbi eredmények igazolták, hogy az aktivált T-sejtek maguk is termelik a Gal-1-et, és ezt összefüggésbe hozták az immunválasz effektor fázisának lecsengésével. A szerzők előzetes eredményei szerint a Gal-1 csökkent expressziója és a Gal-1-gyel szembeni csökkent apoptotikus érzékenység szerepet játszhat a szisztémás lupus erythematosusban (SLE) jelentkező komp-

lex T-sejt-diszfunkció létrejöttében. Jelen munkában a szerzők célja az volt, hogy megvizsgálják a SLE-s betegek aktivált T-sejtjeinek (SLEaktT) az extracelluláris Gal-1-szignál irányított apoptotikus érzékenységet és ennek összefüggését a betegség aktivitásával. További céljuk volt keringő anti-Gal1 antitestek jelenlétének felmérése SLE-ben.

Módszerek. 12 aktív SLE-s beteg és 17 kontroll vérből Ficoll-gradiens periferiás mononukleáris sejteket szeparáltak. Háromnapos phytohaemagglutinin-A-val történt T-sejt-aktiválás után speciális kokultúrák rendszerben (Gal-1-termelő tumorsejtek és T-sejtek együttes tenyésztése) vizsgálták az aktivált T-sejtek exogén (tumorsejt által termelt) Gal-1-gyel szemben mutatott apoptotikus érzékenységet. A 12 aktív SLE és 17 kontroll minta mellé 4 betegnél inaktív betegség idején levett vérmintákon is elvégezték a méréseket. További 34 SLE-s beteg szérumból ELISA-val határozták meg az anti-Gal-1 mennyiségét, és összevetették a SLEDAI betegségaktivitási indexszel.

Eredmények. Aktív betegség idején (átlagos SLEDAI: 15,3) az SLE-s betegek T-sejtjei kevésbé reagáltak az exogén Gal-1 által indukált apoptotikus szignálokra, mint a kontrolloké (relatív apoptotikus arány [RAA]: $4,4 \pm 9,3$ vs. $17,7 \pm 10,2$, $p < 0,05$), míg remisszióban (átlagos SLEDAI: 2) a 4 betegben átlagosan magasabb RAA-értékeket kaptak, mint az aktív időszakban ($12,7 \pm 10,1$, NS). Az anti-Gal1 ELISA-vizsgálatokban a SLE-s betegekben a negatív kontrollhoz viszonyított átlagos standardizált optikai denzitás érték 1,23 volt, és a 34 beteg közül 25-ben a határérték feletti volt az érték. Az anti-Gal1-szint nem mutatott összefüggést a betegségaktivitási indexszel.

Következtetések. SLE-s betegek T-sejtjei aktív betegség idején rezisztensek az immunválaszt fiziológiásan gátló Gal-1 apoptotikus hatásával szemben, ami hozzájárulhat a kórképben észlelhető fokozott T-sejt-aktivitáshoz. A SLE-s betegek többségében anti-Gal-1 ellenanyagok mutathatók ki, melyek szerepének feltárásához további vizsgálatok szükségesek.

PAJZSMIRIGYELLENES AUTOANITEST POZITÍV, INFERTILIS/VETÉLŐ NŐK PERIFÉRIÁS LYMPHOCYTÁINAK VIZSGÁLATA

BOGÁR BARBARA¹, MIKÓ ÉVA¹, SZEREDAY LÁSZLÓ¹, MEGGYES MÁTYÁS¹, BARAKONYI ALÍZ¹, VÁRNAGY ÁKOS², BÓDIS JÓZSEF², SZEKERES-BARTHÓ JULIANNA¹, MEZŐSI EMESE³

¹Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Orvosi Mikrobiológia és Immunitástani Intézet, Pécs

²Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Pécs

³Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, I. Sz. Belgyógyászati Klinika

Bevezetés. Az autoimmun thyreoiditis (AIT) a pajzsmirigy autoimmun betegsége, amely a fertilis korú nők körében nagy-

mértékben növeli a korai vetélések, illetve a meddőség kockázatát. Hátterében szerológiai vizsgálattal kimutatható thyreoideaperoxidáz- és tireoglobulinellenes antitestek (anti-TPO, anti-TG) állnak. Ezen autoantitestek jelenléte többek között jelentős szerepet játszik a mesterséges megtermékenyítések után a terhesség bekövetkezésének elmaradásában. Érdekes az a megfigyelés, hogy a betegek pajzsmirigyhormon-terápiájával a vetélések kockázata kivédhető, illetve a reprodukciós képesség is javítható.

Módszerek. Jelen kutatás során pajzsmirigyellenes autoantitest pozitív, infertilis/vetélő nők (N = 20) periferiás lymphocytáinak fenotípusos és funkcionális sajátosságait vizsgáltuk, majd a kapott eredményeket összehasonlítottuk egészséges nők (N = 20) értékeivel. A lymphocyták fenotípusának vizsgálata során sejtfelszíni, illetve intracelluláris jelölést végeztünk fluorokrómmal konjugált monoklonális ellenanyagokkal. A funkcionális tesztek során a periferiás lymphocyták K562 targetsejttel szemben mutatott citotoxikus aktivitását vizsgáltuk, valamint a TSH-, T3-, T4-kezelt lymphocyták citokintermelését mértük CBA- (cytometric bead array) technika segítségével.

Eredmények. A lymphocytákat áramlási citométerrel, a CellQuest szoftverprogram segítségével mértük és analizáltuk. Eredményeink alapján megállapítható, hogy az egészséges donorok és az autoantitest-pozitív nők periferiás lymphocytáinak fenotípusa nagymértékű különbséget mutat mind a szubpopulációk, mind pl. a felszíni receptorexpressziót és a citotoxicitást illetően. Ugyanakkor sem az AIT betegek, sem az egészséges donorok lymphocytáinak citokintermelése nem változott a TSH-, T3-, T4-kezelésekre egyik általunk alkalmazott koncentrációban sem.

Következtetések. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy az AIT betegekben a szisztémás, Th1-orientált, gyulladást elősegítő változások kedvezőtlenül befolyásolhatják az implantáció/terhesség sikeres kimenetelét. Ugyanakkor az AIT betegek thyroxinterápiája valószínűleg nem a szisztémás citokintermelés megváltoztatásával fejt ki protektív hatását.

A PIBF FEHÉRJE EXPRESSZIÓJÁNAK VIZSGÁLATA EGEREKBE A TERHESSÉG SORÁN

BOGDÁN ÁGNES, POLGÁR BEÁTA, PANDUR EDINA, SZEKERES-BARTHÓ JÚLIA

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet, Pécs

Bevezetés. A terhesség során a magzat szemiallogén graftként viselkedik, hiszen félig apai eredetű, így az anyai immunrendszer számára idegen antigéneket hordoz. Mindezek ellenére a terhességek zömében a magzat mégsem lökődik ki. Ebben kulcsfontosságú szerepe van a progeszteronnak, il-

letve a progeszteron immunológiai hatásait közvetítő progeszteronindukált blokkoló faktornak (PIBF-nek). A PIBF-et progeszteron jelenlétében az anyai lymphocyták és a terhességhez asszociált szövetek termelik. A fehérje Th2 típusú citokintermelést indukál, gátolja a citotoxikus NK-sejtek működését és az arachidonsav-metabolizmust, valamint fokozza az aszimmetrikus antitestek termelődését, ezáltal elősegíti a terhesség sikeres kiviselését. A PIBF-molekula kódolásáért egérben a 14. kromoszómán található PIBF1 gén felelős. A génről átíródó mRNS 18 exonból áll, amelyről aktivációindukált alternatív splicing révén különböző izoformák keletkezhetnek, köztük a teljes láncú 756 aminosavból álló, 89 kDa molekulatömegű fehérje.

Módszerek. Korábban reverz transzkripció-polimeráz láncreakció segítségével kimutattuk, hogy egérben a terhességhez asszociált szövetekben a PIBF génről leíró exonok mintázata kismértékű szövetspecifitást mutat, továbbá eltér a terhesség különböző szakaszaiban. Megfigyeléseinket fehérjeszinten is szeretnénk volna igazolni, ezért a mintákat Western-blot segítségével, PIBF-specifikus poliklonális antitesttel vizsgáltuk.

Eredmények. Munkánk során igazoltuk, hogy az mRNS-szinten fennálló különbségek fehérjeszinten is megfigyelhetők, mind mennyiségi, mind minőségi eltéréseket mutatnak. Ezen változások az abortatumban és a környező méhszövetben voltak a legkifejezettebbek.

Következtetések. A PIBF jelenléte valamennyi vizsgált egérszövetben mRNS- és fehérjeszinten is kimutatható, patológias állapotokban pedig az expressziós mintázat elszegényedését figyeltük meg.

EGY PÓRUSKÉPZŐ TOXIN, A LYSENIN EXPRESSZIÓS MINTÁZATA EISENIA FETIDA COELOMASEJTEKEN

BOGNÁR ANDRÁS¹, OPPER BALÁZS^{1,2}, HEIDT DIÁNA¹, NÉMETH PÉTER¹, ENGELMANN PÉTER¹

¹Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

²Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai Intézet, Pécs

A giliszták immunválaszában kitüntetett szerepet játszanak a coelomasejtek alpopulációi. Ezen immunsejtek nemcsak a celluláris effektorfunkciókban vesznek részt, de antimikrobiális és citotoxikus molekulák termelésével elősegítik a humorális immunfolyamatokat is. Az ún. fetidin/lysenin családba tartozó fehérjék az egyik legjobban ismert bioaktív komponensei az *Eisenia fetida* faj coelomafolyadékának. Membránbiológiai kutatásokból jól ismert, hogy a lysisin citotoxikus hatását specifikusan az eukarióta sejtek membránjában található szfingomielinhez kötődve fejti ki. Kevésbé ismert azon-

ban a lysisin szöveti lokalizációja, illetve az, hogy ezen molekula termelődése indukálható-e mikrobákkal. Kísérleteinkben először egy új monoklonális ellenanyagot (a-EFCC5) állítottunk elő a lysisin ellen, melyet immunhisztokémiai, áramlási citometriai és immunszerológiai módszerekben használtunk fel.

Eredményeinkből egyértelműen látszik, hogy az izolált coelomasejtek közül elsősorban az ún. eleociták vagy más néven chloragociták termelik a lysisint. A lysisinpozitív coelomasejteket más, korábban a coelomasejtekre specifikus mAt-ekkel (EFCC1-4 markerek) is jelöltük, hogy a lysisin pontos expresszióját meghatározzuk. Gilisza kriosztátos keresztmetszeten immunhisztokémiai és immunfluoreszcens vizsgálataink megerősítették, hogy a lysisintermelés a testüregei sejtekre korlátozódik. Az a-EFCC5 mAt festési mintázata összehasonlítottuk gyári poliklonális a-lysin ellenanyag által adott reakciókkal, és hasonló eredményeket kaptunk mindkét esetben. További kísérleteinkben a coelomasejtek baktériumkezelésre bekövetkező lysisinexpressziós változásait követtük nyomon. Hőinaktivált *S. aureus* és *E. coli* törzsekkel inkubáltuk in vitro a coelomasejteket. A sejtek lizátumában megemelkedett a lysisin mennyisége a *S. aureus* baktériumtörzs adását követően, illetve a *S. aureus*szal kezelt sejtek felülszójában is nagyobb lysisinkoncentrációt mérünk a kontroll, illetve az *E. coli*-kezelt mintákhoz képest.

Munkánk alapján megállapítható, hogy a coelomasejtek egyik populációja, az eleociták vesznek részt a lysisintermelésben. A citotoxikus molekulák termelése Gram-pozitív baktériumok hatására megemelkedik a coelomasejtekben, melyek szekretálják is ezen humorális faktorokat.

A NYÚL FcRn KARAKTERIZÁLÁSA; AZ FcRn TRANSZGÉNIKUS NYULAK IMMUNFENOTÍPUSÁNAK JELLEMZÉSE

LEMOs ANA PAULA CATUNDA¹, CERVENAK JUDIT², BENDER BALÁZS², HOFFMANN IVETT ORSOLYA¹, BARANYI MÁRIA², KERÉKES ANDREA¹, FARKAS ANITA³, BŐSZE ZSUZSANNA¹, HIRIPI LÁSZLÓ¹

¹Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Gödöllő

²ImmunoGenes Kft., Budakeszi

³Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest

A neonatális Fc-receptor (FcRn) befolyásolja az IgG és albumin homeosztázisát, közvetíti a maternális IgG-transzportot és részt vesz az antigénprezentációs folyamatokban. Korábbi vizsgálatainkkal kimutattuk, hogy az FcRn-kifejeződés fokozása jelentősen növeli a humorális immunválasz hatékonyságát transzgénikus (Tg) egerekben. A nyulakat használják a legelterjedtebben a poliklonális ellenanyagok előállítására, sőt újabban monoklonális ellenanyagok fejlesztésére is, és ezért az FcRn-kifejeződés fokozása ebben a fajban is komoly előnyöket biztosíthat a kutatási, diagnosztikai, ill. terápiás reagenek fejleszté-

se szempontjából. Az FcRn Tg nyulak előállításánál először klónoztuk és karakterizáltuk a nyúl FcRn-t és megállapítottuk, hogy nemcsak szekvencia szinten hasonlít a már ismert ortológ molekulákhoz, de a többi FcRn-hez hasonlóan szigorú pH-függő kölcsönhatással kapcsolódik az IgG-hez. Immunhisztokémiai vizsgálatainkkal kimutattuk, hogy a nyúl FcRn a szikzában, placentában és amnionszövetekben ugyanazokban a sejtekben fejeződik ki, mint amelyekben a korábbi vizsgálatok a maternális IgG-transzport során felszívódott IgG-molekulákat detektálták. Ezt követően bakteriális mesterséges kromoszóma (BAC) transzgénikus technológiával több nyúl FcRn transzgénikus alapítót is létrehoztunk, és közülük IgG katabolizmus vizsgálattal a #78 vonal egyedeinek immunfenotípusát elemeztük részletesebben. Megállapítottuk, hogy a bFcRn Tg egerekhez hasonlóan a Tg nyulak is fokozott humorális immunválasszal reagálnak különféle antigénekként történt immunizálásukat követően, azaz fokozott antigénspecifikus IgG-titert (ELISA) és több antigénspecifikus B-sejtet (ELISPOT) mértünk, mint a kontroll állatok esetén. Megállapíthattuk tehát, hogy az FcRn-t nagyobb mértékben kifejező Tg nyulak fokozott immunválassz-képessége, azaz 1. a magasabb antigénspecifikus szérums-IgG-titer; 2. a nagyobb számú Ag-specifikus B-sejt és a 3. hatékony immunválasz gyengén immunogén Ag esetén, új lehetőséget kínál a terápiás, diagnosztikai és kutatási poliklonális és monoklonális ellenanyagok előállítása terén.

A KOMPLEMENT MASP-1 HATÁSA AZ ENDOTHELSEJTEK PERMEABILITÁSÁRA

CERVENAK LÁSZLÓ¹, JANI PÉTER¹, WALTER FRUZHINA², MEGYERI MÁRTON³, KAJDÁCSI ERIKA¹, GÁL PÉTER³, DELI MÁRIA²

¹Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Kutatólabor, Budapest

²MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Szeged,

³MTA Enzimológiai Intézet, Budapest

Bevezetés. A komplementrendszer lektin útjának aktiválódása során jól ismert a MASP-2 szerepe, de a rokon MASP-1 funkciója még nem egyértelmű. Korábban kimutattuk, hogy az aktív MASP-1 kiváltja az endothelsejtek IL-6- és IL-8-expresszióját, ami a neutrofil granulocyták kemotaxisában fontos szerepet játszhat. Kíváncsiak voltunk, hogy emellett képes-e a MASP-1 az endothelsejtek permeabilitását is megváltoztatni, ami – sok más funkción túl – szintén a mikrobák elleni védekezőmechanizmusok egyik eleme. Ráadásul, amennyiben a MASP-1 növeli az endothelsejtek permeabilitását, akkor ez az útvonal szerepet játszhat a hereditár angiooedéma (HANO) kialakulásában is, ahol pont a MASP-1 egyik inhibitora, a C1-inhibitor funkciója sérült.

Módszerek. Endothelsejt modellként primer HUVEC tenyészetet használtunk. A permeabilitás nyomon követését három módszer segítségével végeztük. Elsőként valós idejű

sejtanalízissel (xCELLigence, 96-well E-plate, Roche) mértük a konfluens tenyészet impedanciaváltozását MASP-1 hatására az idő függvényében, 1 napon keresztül. Ezután Transwell tenyésztőbetétekkel létrehozott 2 kompartmentes rendszerben vizsgáltuk egy kisméretű (4 kDa FITC-dextrán) és egy közepes méretű (65 kDa Evans-kékkel jelölt albumin) indikátormolekula átjutását a 3 mikrométeres pórusméretű szűrőn tenyésztett sejtrétegen. Végül fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk az endothelsejtek közötti kapcsolatokban fontos VE-kadherin és ZO-1-molekulák immunfestődésének mintázatát.

Eredmények. Kimutattuk, hogy a MASP-1 a trombinhoz hasonló módon és hasonló időkinetikával csökkenti az endothelsejtek által létrehozott impedanciát. Az impedancia minimuma 15 és 20 perc között volt megfigyelhető, majd a sejtkapcsolatok és az általuk létrehozott barrier lassan helyreállt. A reakciót a MASP-1 endogén gátlószerével a C1-inhibitorral csökkenteni lehetett. Az impedanciaméréssel összhangban Transwell rendszerben is kimutattuk, hogy a MASP-1 növeli az endothelsejtek permeabilitását. Mind a dextrán, mind az albumin átjutása szignifikánsan megnőtt 20 percnél, majd később csökkent. Míg a nyugalomban lévő, tipikusan kockakő alakot felvevő HUVEC tenyészetben a VE-kadherin és a ZO-1 körülrajzolja a sejthatárokat, addig a MASP-1-kezelés hatására ezen molekulák lokalizációja megváltozott, a festődés szaggatott lett, és intercelluláris rések alakultak ki.

Következtetések. A MASP-1 kiváltja az endothelsejtek permeabilitásnövekedését. Ez segíthet az immunsejteknek a mikrobák által fertőzött területekre való emigrációjához. Mivel a MASP-1 aktivációja a lektin út kaszkádjának elején, a 2. lépésben valósul meg, így a gyors, 15 perces permeabilitásnövekedés a nagyon korai immunválasz fontos eleme lehet. Másrészt a MASP-1 permeabilitásnövelő hatása szerepet játszhat a HANO rohamok kiváltásában.

A NIMRÓD GÉN SZUPERCSALÁD SZEREPE A VELESZÜLETETT IMMUNITÁSBAN

CINEGE GYÖNGYI, ZSÁMBOKI JÁNOS, KURUCZ ÉVA, HONTI VIKTOR, CSORDÁS GÁBOR, ANDÓ ISTVÁN

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Szeged

A *Drosophila melanogaster*-ben leírt Nimród gén szupercsalád (Kurucz és mtsi., *Current Biol.*, 2007, Somogyi és mtsi., *FEBS Letters*, 2010) fontos evolúciós egységet alkot, ugyanis tagjainak sorrendje 300-350 millió éven keresztül változatlan maradt a különböző ízeltlábú fajok genomjában. A szupercsalád génjei által kódolt fehérjék és homológjaik a veleszületett immunitás alapvető komponensei, egyesek expressziója immunnindukciót követően lényegesen emelkedik, mások a baktériumok vagy apoptotikus sejtek bekebelezésében vesznek részt.

Kísérleteink során a Nimród gén szupercsaládnak a vele-

született immunitásban betöltött szerepét vizsgáljuk. Korábban a NimC1 gén termékét, egy transzmembrán fehérjét fagocitózisreceptoroként azonosítottuk. Ennek nyomán szisztematikus vizsgálatot kezdtünk a régió génjeinek a tanulmányozására, először a klaszternek nevet adó NimA, NimB és NimC gének termékeit, majd a közelmúltban azonosított vajk-1, vajk-2, vajk-3 és vajk-4 gének termékeinek a bekebelezésben játszott szerepét analizáltuk.

A Nimród és Vajk fehérjék funkciójának megismerése érdekében olyan plazmidkonstrukciókat állítottunk elő, melyek C-terminális FLAG-taggel, illetve N-terminális GST-taggel és C-terminális FLAG-taggel ellátott rekombináns fehérjéket kódolnak. A rekombináns fehérjéket bakulovírus alapú expressziós rendszert használva Sf9 lepke sejtvonalon fejeztettük ki. A FLAG-taggel ellátott rekombináns fehérjéket tartalmazó Sf9 sejtlyázumokat FITC-vel jelölt baktériumokkal inkubáltuk és baktériumkötési kapacitásukat áramlási citometriával vizsgáltuk.

Kísérleteink azt mutatják, hogy a Nimród fehérjék elsősorban Gram-negatív baktériumokhoz kötődnek, míg a Vajk fehérjék közül a Vajk-3 kötődik baktériumokhoz. Eredményeink szerint az eddig vizsgált Nimród klaszterbe tartozó gének által kódolt fehérjék a fagocitózis folyamatában vesznek részt: a NimA és a NimC mint transzmembrán receptorok, a mikrobák fagocitához kötésében, míg a NimB és a Vajk fehérjék a mikrobák opszonizálásában.

A GST- és FLAG-taggel ellátott Vajk rekombináns fehérjéket Glutathione Sepharose 4B szilárd hordozó segítségével izoláltuk, Western-blot analízissel azonosítottuk, és felhasználásukkal expressziós vizsgálatokhoz szükséges reagenseket készítünk.

A HMGB1 FEHÉRJE SZEREPE ÉS AZ IZOMREGENERÁCIÓ ÉRINTETTSÉGE IDIOPATHIÁS INFLAMMATORICUS MYOPATHIÁKBAN

CSERI KAROLINA¹, VINCZE JÁNOS², VINCZE MELINDA¹, GRIGER ZOLTÁN¹, CSERNOCH LÁSZLÓ², KOVÁCS ILONA³, DANKÓ KATALIN¹

¹Debreceni Egetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék, Debrecen

²Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Élettani Intézet, Debrecen

³Kenézy Kórház Központi Diagnosztikai Laboratórium, Patológiai Osztály

Bevezetés. Az idiopathiás inflammatoricus myopathiák közös jellemzője a harántcsíkolt izmokat érintő izomgyengeség, amely feltehetően autoimmun eredetű gyulladás következménye. Az autoimmun betegségek kialakulásában szerepet játszik a high-mobility group box 1 protein (HMGB1). Ez a nem hiszton fehérje egy olyan citokin, amely elsődlegesen a sejtmagban található, de sejtaktiváció vagy a sejt pusztulása során képes át-

helyeződni a citoplazmába és az extracelluláris térbe. Aktivált monocyták és makrofágok termelik, és felszabadulhat még számos sejttypusból, így vázizomsejtekből és endothelsejtekből is. Késői gyulladásos mediátorként hozzájárul a szisztémás gyulladás fenntartásához. Immunológiai aktivitása redox állapotától függ. A gyulladás területén lévő őssejtekre hatva elősegíti a regenerációs folyamatokat. Vizsgálataink célja, hogy megismerjük a HMGB1 elhelyezkedését, mennyiségét és funkcióját idiopathiás inflammatoricus myopathiákban, valamint vizsgáljuk az izomsejtek in vitro regenerációs képességét.

Módszerek. A kísérletekhez idiopathiás inflammatoricus myopathiában szenvedő betegektől származó izombiopsziát, kontrollként pedig autoimmun betegségben nem szenvedő páciensek műtéti anyagát használjuk. A vázizomból szatellitasejteket izolálva Yaffé-módszere szerint primer tenyészetet indítunk, melyen követjük a morфомetriai változásokat, és immuncitokémiai festéssel vizsgáljuk a HMGB1 lokalizációját. Az izomminták teljes fehérjetartalmát Western-blot analízissel vizsgáljuk. Az izomregeneráció jeleit, valamint a HMGB1 lokalizációját immunhisztokémiai módszerrel detektáljuk paraffinba ágyazott metszeteken.

Eredmények. A biopsziából indított tenyészeteken a proliferáció később indul be, alacsonyabb rátával zajlik, valamint a fúziós index is kisebb az adott napon a kontroll tenyészetekkel összehasonlítva. A HMGB1 lokalizációja az izomsejtek különböző fejlődési stádiumaiban eltér, a műtéti anyagból és a biopsziából indított tenyészet HMGB1 lokalizációja is különbözik. A betegekből származó izomminták szignifikánsan kevesebb HMGB1-et tartalmaznak, mint a kontroll izmok. A biopsziás mintából készített szövetmetszeten a kontrollhoz képest több regenerálódó rost található, valamint különbözik a HMGB1 lokalizációja és mennyisége.

Következtetések. Eredményeink alapján arra következtettünk, hogy az inflammatoricus myopathiákban szenvedő betegektől származó szatellitasejtek proliferációs képessége sérült, és differenciálódási képességük is érintett. A HMGB1 elhelyezkedése hatással lehet az izomrostok regenerációs képességére és a gyulladás fennmaradására.

SEJTAUTONÓM ÉS NEM SEJTAUTONÓM VÉRSEJT-DIFFERENCIÁLÓDÁS VIZSGÁLATA DROSOPHILA MELANOGASTERBEN

CSORDÁS GÁBOR^{*}, HONTI VIKTOR^{*}, KARI BEÁTA, VARGA GERGELY ISTVÁN, KURUCZ ÉVA, ANDÓ ISTVÁN

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai intézet, Immunológiai csoport

^{*} A szerzők azonos mértékben járultak hozzá az eredményekhez.

Az ecetmuslica immunvédekezése a humorális és sejtközvetített immunválasz szoros együttműködésére épül. A specia-

lizált immunsejtek (hemociták) eredete egészen a korai embrionális stádiumokig vezethető vissza. A muslica lárvában a vérsejtek kompartmentumokba (keringés, szesszilis szövet, központi nyirokszerv) rendeződnek, amelyekben a vérsejtelőalakok osztódása és érése zajlik.

Korábbi kísérleteink rávilágítottak arra, hogy a lárvá vérsejt-képző kompartmentumai egymástól elkülönült embrionális vérsejtvonalakból alakulnak ki. Arra is fény derült, hogy a lárvá vérsejtkompartmentumai közösen vesznek részt a parazitoiddal szembeni immunválasz kialakításában, illetve az effektorsejtek (plazmatociták, kristálysejtek, lamellociták) képzésében.

Sejtvonaljelölés alkalmazásával végzett kísérleteinkből az is kiderült, hogy a korábban terminálisan differenciálódtnak gondolt fagocitáló sejtek, a plazmatociták immunindukció hatására képesek egy másik effektor sejttypussá, tokképző lamellocitává differenciálódni. Az immunindukció hatására komplex génkifejeződési változások játszódnak le, melyek molekuláris háttere nem ismert. Az sem tisztázott még, hogy az érés folyamata sejtautonóm módon folyik-e, vagy az egyes vérsejtek képesek egymásnak szignálokat adni, és ezzel egy láncreakció-szerű differenciálódási hullámot elindítani.

Kísérleteinkben olyan jelátviteli utakat vizsgáltunk, amelyek ezen differenciálódási folyamatok kulcsszereplői. Vizsgálatainkhoz egy olyan transzgénikus expressziós rendszerre volt szükség, amely nem érzékeny a differenciálódás során végbemenő génkifejeződés-változásra. Ezért a korábban használt in vivo sejtvonaljelölő rendszerünk segítségével transzkripciós és epigenetikus faktorok génjeit csendesítettük, illetve fejeztettük ki ektopikusan az egyes vérsejtvonalakban (alpopulációkban). Az in vivo vizsgálatok mellett molekuláris markerrendszerünk segítségével jellemeztük a vérsejteket.

Vizsgálatainkból kiderül, hogy egyes transzgének túltermelése egy leszármazási vonalon belül a sejtvonaltól független effektorsejtek megjelenését is okozza (vagyis nem sejtautonóm hatású), míg vannak olyan faktorok is, amelyek csak a jelölt sejtvonalon belül eredményeznek effektordifferenciálódást sejtautonóm módon. Ezen eredmények a sejtek érése során hierarchikusan egymásra épülő szabályozási szintekre engednek következtetni.

A FUNKCIONÁLIS C1-INHIBITOR-SZINT EMELKEDIK HEREDITER ANGIOÖDÉMÁS BETEGEK BEN ROHAM ALATT

CSUKA DOROTTYA, VARGA LILIAN, †FÜST GYÖRGY, ZOTTER ZSUZSANNA, FARKAS HENRIETTE

Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

Bevezetés. A funkcionális C1-inhibitor (C1-INH) hiányában kialakuló hereditár angioödémában (HANO I és II típus) a kininrendszer aktiválódik, és a felszabaduló bradikinin roham-

szerűen jelentkező ödémás tüneteket okoz. Mivel a komplementrendszer aktiválódása is hozzájárulhat ahhoz, hogy a C1-INH-szint csökkenjen, ezért célul tűztük ki a komplementaktiválódás vizsgálatát roham során gyűjtött vérmintákban.

Módszerek. Vizsgálatunkba 27 HANO-s beteget vontunk be, akik 65 alkalommal súlyos ödémás rohamot szenvedtek el, és emiatt C1-INH-koncentrátum-kezelést igényeltek. A C1-INH-koncentrátum beadása előtt levett 65 rohamos, és ugyan-ezen betegektől 39 alkalommal tünetmentes állapotban gyűjtött vérminta állt rendelkezésünkre, továbbá 24 egészséges egyén vérmintáját is megvizsgáltuk. A betegek egy része megelőző kezelésként felszintetikus androgén terápiában részesült. A C4-, antigenikus C1-INH, I-faktor- és B-faktor-szinteket RID-módszerrel, a C1rC1sC1-INH-, C3bBbP-, SC5b-9- és C1q-szinteket házi ELISA-módszerekkel, míg a C1-INH-aktivitást és a C4a-, C4d-, C3a-szinteket kereskedelmi kittel (Quidel) határoztuk meg.

Eredmények. A funkcionális C1-INH-szint emelkedett a rohamok során, megközelítőleg 50%-kal ($p = 0,0009$), míg a többi natív komplementfehérje szintje nem változott a tünetmentes állapothoz képest. Az antigenikus C1-INH fehérje szint nem volt magasabb a roham alatt, bár korrelált a funkcionális C1-INH-szinttel ($r = 0,4786$; $p = 0,0021$). Az ismert tény, hogy a tünetmentes HANO-s betegek plazmájában magasabb a C1rC1sC1-INH-szint az egészséges egyénekhez képest, és korrelál a betegség súlyosságával (Csuka et al., Clinical Immunology, 2011), azonban eredményeink szerint ennek a paraméternek a szintje nem emelkedik tovább az angioödémás rohamok során. A C4a- és C4d-szintek tekintetében sem találtunk különbséget a tünetmentes és a rohamos állapotok között, ugyanakkor a C3a- ($p = 0,0048$), a C3bBbP- ($p = 0,018$) és a SC5b-9- ($p = 0,044$) szintek csökkentek a rohamok során a tünetmentes állapothoz képest. A funkcionális C1-INH-szint emelkedése elsősorban perifériás rohamok során, és a folyamatos danazolprofilaxisban részesülő betegek esetében volt jellemző.

Következtetések. Eredményeink alapján a komplementaktiválódás fokozódása már nem jellemző az ödémás tünetek kialakulását követően. A funkcionális C1-INH-szint kb. 50%-kal emelkedett a rohamok során, amelynek hátterében egy funkcionális C1-INH-aktivitást növelő kompenzációs mechanizmus, illetve a gátlás felfüggesztése feltételezhető. A komplementkaskád C3 lépésétől tapasztalható aktiváció csökkenését a funkcionális C1-INH-szint emelkedése magyarázhatja.

Köszönetnyilvánítás. A vizsgálat az OTKA-NKTH 100886 nyilvántartási számú pályázat keretében készült.

AZ INFLAMMASZÓMA VELESZÜLETETT ZAVARAI – AUTOINFLAMMATORICUS SZINDRÓMA ESETEINK

DÉRFALVI BEÁTA¹, BALOGH LÍDIA², BÓKAY JÁNOS²

¹Semmelweis Egyetem, II. Sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

²Semmelweis Egyetem, I. Sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

A periodikus láz szindrómák, illetve helyesebben autoinflammatoricus betegségek a természetes immunitáshoz tartozó falósejtekben található, a gyulladást szabályozó molekula-komplex, az inflammaszóma zavarából erednek. Egy újonnan leírt betegségcsoportról van szó, ahol a gyulladás látszólag ok nélküli, ismeretlen trigger által – gyakran szabályos időközönként – kiváltott; infekció, autoimmunitás nem áll a háttérben. A kifejezetten emelkedett akut fázis laborparamétereikért, a lázért, a szisztémás és a különböző szervek gyulladásáért a kontrollálatlan IL-1-termelés a felelős. Ezt igazolja, hogy a kórképek nagy része jól kezelhető anticitikin, IL-1-gátló biológiai terápiával (anakinrával, canakinumabbal). Többnyire csecsemő-, illetve kisgyermekkorban induló, változatos klinikai tünetekkel (láz, nyirokcsomó-duzzanat, arthritis, bőrkütiés, aphthák, szemtünetek, serositis) járó betegségekről van szó. Számos idiopathiás és több öröklődő betegség tartozik ide, utóbbiak génmutációit 1997-től írták le.

Az előadásban betegek esetbemutatainak keresztül ismer-tjük a monogénes autoinflammatoricus betegségek tüneteit, jellegzetességeit és azok kezelési lehetőségeit. Ide tartoznak az inflammaszóma pyrin domén mutációjából eredő familiáris mediterrán láz (FMF), a hyper-IgD-szindróma (HIDS) vagy szinonimája, a mevalonsavkináz-hiány, a NLRP3 genetikai hibája esetén jelentkező cryopirinasszociált periodikus láz szindrómák (CAPS) közül a CINCA/NOMID (neonatal onset multiinflammatory disease) szindróma, tumornekrózisfaktorreceptor-asszociált periodikus szindróma (TRAPS) és a CARD domén mutációjából fakadó granulomatosus betegség, az infantilis sarcoidosis. Bemutatjuk a leggyakoribb, egyelőre ismeretlen genetikai és molekuláris hátterű, szteroidkezelésre, illetve tonsillectomiára többnyire jól reagáló periodikus láz szindrómát, a PFAPA/Marshall-szindrómát (periodic fever-adenopathy-pharyngitis-aphtae), valamint a differenciáldiagnosztikai nehézségeket is.

A HEMOFAGOCITÁS LYMPHOHYSTIOCYTOSIS DIAGNÓZISA FUNKCIONÁLIS ÁRAMLÁSI CITOMETRIÁVAL

DÉRFALVI BEÁTA¹, ERDÉLYI DÁNIEL¹, KOVÁCS GÁBOR¹, KRIVÁN GERGELY², FEKETE GYÖRGY¹, SZABÓ ANDRÁS¹, FALUS ANDRÁS³, PÁLLINGER ÉVA³

¹Semmelweis Egyetem II. Sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

²Egyesített Szt. István és Szt. László Kórház, Budapest

³SE Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

A szerzők egy fatális kimenetelű familiáris hemofagocitás lymphohistiocytosis (FHL) csecsemő esetét mutatják be. Funkcionális áramlási citometriával vizsgáltuk a molekuláris hátteret, a perforin exocitózisáért felelős vesicularis transzport zavarát, amely korszerű eljárás, de egyelőre a klinikumban nem terjedt el. A makrofágaktivációs szindróma tüneteit (láz, splenomegalia, bőrkütiés, tudatzavar, vérzések) és jellegzetes laboreltéréseit (emelkedett ferritin, triglicerid, transzaminázok, pancytopenia, csökkent fibrinogén, csontvelőben hemofagocitózis) jelen esetben infekció indukálta. A HLH-94-es kezelési protokollja szerint szteroid, etopozid, ciklosporin-A immunszuppresszió és intravénás immunglobulin adása után átmeneti javulás történt, majd egy újabb infekció kapcsán ismét fellángolt betegsége. Myeloblativ előkezelést követően HLA-identikus testvértől haematopoieticus őssejt transzplantációt kapott, amely után rövid idővel a csecsemőt egy infekciós szövődményben elvesztettük. A hemofagocitás lymphohistiocytosis (HLH) a Tc- és az NK-sejtek túlaktiválódása és funkcionális zavara, és a következményes makrofágaktiváció következtében kialakuló súlyos, életet veszélyeztető, extrém gyulladással társuló immunhiányos állapot. A betegség hátterében a perforin fehérje működését, ill. a molekula exocitózisát érintő mutációk állnak. Az iránydiagnózis bizonyítására áramlási citometriás módszerrel meghatároztuk az NK- és a Tc-sejtek öloktivitását, megvizsgáltuk a sejtek perforintartalmát, és in vitro stimulációt követően detektáltuk a perforinszekréció során felszínre kerülő CD107a molekula expresszióját. A beteg NK- és a Tc-lymphocytáinak öloktivitása csökkent: kevés K562 célsejtet tudtak elpusztítani, viszont fokozott perforinexpresszió volt kimutatható bennük intracellulárisan. A perforinszekréció zavarát a lizoszómaasszociált membránfehérje 1 (LAMP1 = CD107a) in vitro stimulációt (PMA + ionomycin) követő gátolt sejt felszíni expressziójával igazoltuk. A mérési eredményeket életkorban illesztett, egészséges kontroll gyermek vizsgálati eredményeihez hasonlítottuk. A genetikai vizsgálat is alátámasztotta a FACS-módszerrel felállított diagnózisunkat: az FHL 3-as típusával összefüggésben álló mutációt igazolt (UNC13D gén). Ismertetjük a HLH klinikai felosztását, a makrofágaktivációs szindróma differenciáldiagnosztikáját. A ritka FLH, mint primer immunhiányos kórkép esetbemutataival az áramlási citométerrel végezhető funkcionális vizsgálatok jelentőségére kívánjuk felhívni a figyelmet a Tc- és NK-immundeficiens állapotok diagnosztikájában.

A TIROZINKINÁZ-GÁTLÓ DASATINIB HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ GYULLADÁSOS FOLYAMATOKBAN

FUTOSI KRISZTINA¹, NÉMETH TAMÁS¹, SZIGETI KRISZTIÁN²,
MÁTHÉ DOMOKOS³, MÓCSAI ATTILA¹

¹Semmelweis Egyetem Élettani Intézet, Budapest

²Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest

³Mediso Kft., Budapest

Bevezetés. A dasatinib egy kis molekulás tirozinkináz-gátló-szer, amely hatékonyan és specifikusan gátolja az Bcr-Abl fúziós fehérjét, az Abl és Src családba tartozó kinázokat. A Philadelphia-kromoszóma-pozitív leukémiás betegek terápiájában rutinszerűen használják. Korábban kimutattuk, hogy az inhibitor a leukémiás betegeknél megfigyelhető terápiás koncentrációtartományban gátolja az érett humán neutrofil granulocyták Fcγ-receptor- és β2-integrin-függő funkcionális válaszait, míg az antimikrobiális sejtválaszokat nem befolyásolja drámai mértékben. Jelen munkánkban a gyógyszer in vivo hatásait vizsgáltuk különböző neutrofil granulocyta mediált gyulladásos folyamatokban.

Módszerek. Per os dasatinibkezelést kapott C57BL/6 eger-ek segítségével vizsgáltuk az ödémaképződés mértékét reverz passzív Arthus-reakció során nanoSPECT-CT segítségével és az ízületi gyulladás klinikai jeleinek megjelenését és a boka vastagságbeli változásait a gátlószer napi kétszeri adagolása mellett az autoantitestek segítségével kiváltott K/BxN szérum transzfer arthritis modellben, valamint a neutrofil granulocyták peritoneumba történő vándorlását áramlási citometriával tioglikolátindukált steril peritonitis modellben.

Eredmények. Az Arthus-reakció kialakulását a szájon át adott dasatinib nagymértékben gátolta. Az általunk alkalmazott legnagyobb dózisban (50 mg/kg) már 60%-kal csökkentette a következményes ödémaképződést. Napi kétszeri 20–50 mg/kg dasatinib hatékonyan gátolta az autoantitest-indukált arthritis során a gyulladás klinikai jeleit, és a bokavastagság változását. A dasatinib nemcsak gátolta az ízületi gyulladás kialakulását, hanem a már kialakult betegség progresszióját is megakadályozta, amennyiben a kezelést a gyulladás indukcióját követő 4. napon kezdtük. Ezzel szemben a tioglikolátindukált steril peritonitis modellben a neutrofil granulocyták migrációs képességét a dasatinibkezelés lényegében nem befolyásolta.

Következtetés. Eredményeink szerint a dasatinib amellett, hogy a neutrofil granulocyták számos in vitro funkcióját képes gátolni, az általunk vizsgált neutrofil granulocyta mediált gyulladásos betegségek kialakulását is hatékonyan csökkentette az irodalomban elfogadottan használt dózistartományban. A korábbi in vitro és a jelenlegi in vivo eredményeink alapján felmerül a dasatinibszármazékokban rejlő terápiás lehetőség a túlzott neutrofil granulocyta aktivációval járó gyulladásos betegségekben az antimikrobiális védekezés jelentős befolyásolása nélkül.

A HÁZI MÉH VÉRSEJTJEINEK HETEROGENITÁSA

GÁBOR ERIKA¹, TÖRÖK TIBOR², CSORDÁS GÁBOR¹, HONTI VIKTOR¹,
KURUCZ ÉVA¹, ANDÓ ISTVÁN¹

¹MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Immunológiai Csoport, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Biológus Tanszékcsoport, Genetika Tanszék

A házi méh a Hymenoptera rendbe tartozó kozmopolita elterjedésű rovar. Az egyik legfontosabb faj a növények beporzásában, ezáltal a biodiverzitás kialakulásában, nélkülözhetetlen a méztermelésben, a különböző „méztermékek” előállításában. A háziméh-kolóniákat több patogén károsítja, és az utóbbi időben a kolóniák súlyos gazdasági károkat eredményező pusztulása is drámaian megemelkedett. A patogén-gazdaszervezet kölcsönhatásának megértéséhez meg kell ismernünk a házi méh immunrendszerének működését. A házi méh szociális faj, alternatív stratégiákat alkalmaz, mint például a tisztogatás, „kaptárláz”, ezért immunrendszere az eddig részletesen vizsgált *D. melanogaster* modellorganizmushoz képest speciális elemeket is tartalmazhat. A többi rovarfajhoz hasonlóan antimikrobiális peptidek termelésével, sejtközvetített immunreakcióval, bekebelezéssel és feltehetően tokképzéssel pusztítja és határolja el a mikrobákat és a parazitákat. A sejtközvetített immunreakciók effektorsejtjeinek, vérsejteknek jellemzése eddig kizárólag morfológiai jegyek alapján történt, azonban sem a morfológiailag egymástól különböző sejttypusok funkciói, sem a differenciálódási vonalak nem ismertek, és mindeddig vérsejtképző szöveteket sem sikerült azonosítani.

Kísérleteinkben a házi méh sejtközvetített immunitásának elemeit, a vérsejteket vizsgáltuk. Immunológiai markereket azonosítottunk, amelyeket a lárvá és az adult keringő vérsejtjein adott reakciómintázatok alapján csoportosítottunk. A vérsejtspecifikus markerek alkalmasak lehetnek a házi méh immunitásának, sejtközvetített immunválaszának a vizsgálatára és a vérsejtképző szövetek azonosítására.

CANDIDA ALBICANS ÉS CANDIDA PARAPSILOSIS GOMBÁK ÁLTAL INDUKÁLT T-SEJTES IMMUNVÁLASZ VIZSGÁLATA HUMÁN PERIFÉRIÁS VÉRŐL SZÁRMAZÓ MONONUKLEÁRIS SEJTEK IN VITRO RENDSZERÉBEN

GÁCSE ATTILA, TÓTH ADÉL

Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék, Szeged

Bevezetés. Az invazív candidafertőzések legnagyobb hányadért napjainkban is a *C. albicans* felelős, ám az utóbbi évtizedek folyamán a nem *albicans* fajok, pl. a *C. parapsilosis* ál-

tal okozott megbetegedések száma folyamatosan nő¹. A gyakran halálos kimenetelű *C. parapsilosis*-fertőzés veszélyének különösen az újszülöttek vannak kitéve². Klinikai jelentőségük ellenére azonban a *C. parapsilosis* okozta megbetegedések immunológiájáról még mindig keveset tudunk. A jelen tanulmány célja a *C. parapsilosis* által indukált T-sejtes immunválasz *in vitro* vizsgálata volt.

Módszerek. Munkánk során humán perifériás vérből származó mononukleáris sejteket inkubáltunk *C. albicans* vagy *C. parapsilosis* hővel előlt vad típusú törzseivel, majd adott idő elteltével meghatároztuk bizonyos citokinek koncentrációját a sejtkultúrák felülúszóiban enzimmötött immunoszorbens próba (ELISA) segítségével. Egyes esetekben a candida törzsek hozzáadása előtt bizonyos inhibitorokkal előinkubáltuk a mononukleáris sejteket. A szekretált TNF α , IL-1 β és IL-6 koncentrációjának mérése 24 óra, az IFN γ és IL-10 48 óra, végül az IL-17 és IL-22 7 nap után történt. Az IL-17-et termelő sejtek számát áramlási citometria segítségével határoztuk meg intracelluláris citokinfestést követően.

Eredmények. A fent említett *in vitro* rendszerben a *C. parapsilosis* ugyanolyan hatékonyan indukálta a TNF α , IL-1 β és IL-6 gyulladásos citokinek termelését, mint a *C. albicans*, a T-sejtek által termelt citokinek szintjében azonban jelentős különbség adódott a két fajjal történt stimulációt követően. A *C. parapsilosis*-szal fertőzött sejtek szignifikánsan több IL-10-et és kevesebb IFN γ -t termeltek a *C. albicans*-szal stimulált sejtekhez viszonyítva, ami a Th1-Th2 egyensúly eltolódására utal. Ugyancsak különbséget tapasztaltunk a Th17-sejtek által termelt citokinek, az IL-17 és IL-22 szintjében: míg a *C. albicans* jellegzetesen erős Th17-választ indukált, a *C. parapsilosis* csak jóval gyengébb IL-17- és IL-22-termelést váltott ki. Az alacsonyabb mértékű Th17-differenciációt *C. parapsilosis*-szal stimulált minták esetén áramlási citometriával is megerősítettük. Bizonyos receptor-, illetve kinázblokkolók segítségével megvizsgáltunk továbbá a két candida faj immunológiai felismerésében és az azt követő jelátvitelben szerepet játszó néhány lehetséges elemet is. Megállapítottuk, hogy a Dectin-1 receptor blokkolása, valamint a három klasszikus MAP-kináz (p38, ERK, JNK) gátlása is erősen csökkenti mind a *Candida albicans*-szal, mind a *Candida parapsilosis*-szal stimulált mononukleáris sejtek citokintermelését.

Következtetések. Eredményeink rámutatnak, hogy a *C. parapsilosis* a *C. albicans*-tól eltérő citokinválaszt vált ki humán mononukleáris sejtek *in vitro* rendszerében. A tény, hogy a *C. parapsilosis* hasonló gyulladásos választ indukál, azonban nem képes olyan hatékony Th17-differenciációt kiváltani, mint a *C. albicans*, számos kérdésre adhat választ a két faj eltérő virulenciáját illetően.

Referenciák

1. David Trofa, Attila Gácsér and Joshua D. Nosanchuk: *Candida parapsilosis*, an Emerging Fungal Pathogen. Clin. Microbiol. Rev. 21:606–625. (2008)

2. John Dotis, Priya A. Prasad, Theoklis Zaoutis and Emmanouel Roilides. Epidemiology, Risk Factors and Outcome of *Candida parapsilosis* Bloodstream Infection in Children. Pediatr. Infect. Dis. J. 31: 557–560 (2012)

A PRINS NEM KÓDOLÓ RNS KIFEJEZŐDÉSÉNEK ÉS EGYÜTT HATÓ PARTNERÉNEK TANULMÁNYOZÁSA

GÖBLÖS ANIKÓ¹, BACSA SAROLTA¹, BATA-CSÖRGŐ SZUSZANNA^{1,2}, KEMÉNY LAJOS^{1,2}, SZÉLL MÁRTA²

¹Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

²MTA Szegedi Tudományegyetem Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

Kutatócsoportunk korábbi munkája során azonosította a PRINS nem kódoló (nc) RNS-t, amely szerepet játszik a pikkelysömörre való hajlam kialakításában. *In vitro* kísérleteink során megállapítást nyert, hogy a PRINS kifejeződését környezeti stressz faktorok indukálják. Ezt követően sikerült azonosítani a nukleofozmint (NPM), mint a PRINS ncRNS közvetlen interakciós partnerét. Az NPM-ről ismert, hogy egy multifunkcionális foszoprotein, és UV-sugárzás hatására a magvacskából a magplazmába vándorol fibroblastokban és tumoros sejtvonalakban.

Célunk volt megvizsgálni a PRINS ncRNS sejtbéli és szöveti eloszlását *in situ* hibridizációs technikával, valamint szándékunkban állt a PRINS génspecifikus csendesítésének hatását megvizsgálni a NPM sejten belüli elhelyezkedésére UV-B-besugárzott humán keratinocytákban.

Az *in situ* vizsgálatok során igen eltérő festődési mértéket és mintázatot tapasztaltunk a különböző szövetekben: a PRINS ncRNS magas kifejeződést mutat bél-, bőr-, here-, méh-, nyirok- és tüdőszövetben, ezzel szemben a kis- és nagyagyszövetben nem detektáltunk festődést. Az epidermisben és izolált keratinocytákban szöveti és sejttestet követően egyaránt kifejezett nukleoláris és perinukleáris festődés látható, illetve homogén citoplazmás eloszlás.

A PRINS ncRNS génspecifikus csendesítését követően immuncitokémiai kísérleteink azt mutatták, hogy a PRINS-csökkentés gátolta a NPM UV-B-sugárzást követő transzlokációját, amely arra utal, hogy a NPM és a PRINS ncRNS között fizikai és funkcionális kapcsolat egyaránt fennáll.

Eredményeink arra utalnak, hogy a PRINS ncRNS kifejeződik számos szövetben, de kifejeződésének mértéke nagyban eltér. Funkcionális vizsgálataink pedig azt sugallják, hogy a PRINS szerepet játszik a sejtek NPM-mediált stresszválaszban.

MIKROVEZIKULÁK MÉRÉSÉT BEFOLYÁSOLÓ PREANALITIKAI TÉNYEZŐK VIZSGÁLATA

GYÖRGY BENCE¹, KOVÁCS ALEXANDRA¹, PÁLÓCZI KRISZTINA¹,
BEKŐ GABRIELLA², VÁRNAGY KATALIN², FALUS ANDRÁS¹, BUZÁS EDIT¹

¹Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

²Semmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina Tanszék

Bevezetés. A mikrovezikulák (MV-k) sejteredetű, membránnal határolt struktúrák, amelyek új típusú biomarkerek lehetnek különböző betegségekben. Mérésüket ugyanakkor számos tényező nehezíti, mérésekre nincsenek még standard, kidolgozott protokollok. Többek között a vérvételi csőben, ex vivo létrejövő vezikulaképződés is jelentősen módosíthatja a mért MV-számot. Munkánk célja az volt, hogy vizsgáljuk a vérvételkor alkalmazott különböző antikoagulánsok MV-mérésre gyakorolt hatását. Vizsgáltuk továbbá, hogy az ex vivo vérlemezke-aktivációt és vezikulaképződést hogyan befolyásolja az alkalmazott antikoaguláns.

Módszerek. Összesen 50 egészséges személytől vettünk vénás vért különböző antikoagulánsot tartalmazó vérvételi csővekbe (citrát, ACD, CPDA, heparin, CTAD). A vért az „International Society on Thrombosis and Haemostasis” által javasolt, új differenciálcentrifugálási protokoll alapján dolgoztuk fel, majd az MV-számot áramlási citométerrel és Zymuphen protrombinázvizsgálattal határoztuk meg. Áramlási citometriával a vezikulákat annexin V-FITC és a vérlemezke-specifikus anti-CD42a segítségével jelöltük meg, míg a Zymuphen assay esetében az annexin V+ MV-k trombinaktivációs készségét határoztuk meg. Az ex vivo vezikulaképződést 1 órás rázással, illetve 1 órás 37 °C-on történő inkubációval indukáltuk.

Eredmények. A mért MV-szám a különböző antikoagulánsok alkalmazása esetében meglepő módon jelentősen eltért mind áramlási citométerrel mérve (ANOVA, $p < 0,001$), mind a Zymuphen assay alkalmazása során (ANOVA, $p < 0,001$). A legmagasabb MV-számot mind az FC, mind a Zymuphen assay esetében a heparinnal antikoagulált mintákban találtuk, a legalacsonyabbat áramlási citometriával mérve az ACD csőben, Zymuphen assay esetén pedig a CPDA mintákban mértük. A Zymuphen assay-val és az áramlási citometriával mért MV-szám között az ACD cső esetében rendkívül erős korrelációt találtunk ($R = 0,872$, $p = 0,0001$), míg más antikoagulánstartalmú csövek esetében nem igazolódott korreláció. Az ex vivo MV-képződést az ACD cső a konvencionális citrátos csővel szemben meglepő módon gátolta mind a rázás, mind a 37 °C-os inkubáció során. Az ACD cső komponenseinek analízise során kiderült, hogy a savas pH felelős a vezikuláció gátlásáért.

Következtetések. A vérvétel során alkalmazott, korábban nem vizsgált antikoaguláció nagymértékben befolyásolja a mért MV-számot. Az ACD csőben mért alacsony MV-szám oka

az alacsonyabb pH-értéken tapasztalható vérlemezkeaktiváció-gátlás. Az ACD cső esetében rendkívül erős korrelációt találtunk ($R = 0,872$, $p = 0,0001$), míg más antikoagulánstartalmú csövek esetében nem igazolódott korreláció. Az ex vivo MV-képződést az ACD cső a konvencionális citrátos csővel szemben meglepő módon gátolta mind a rázás, mind a 37 °C-os inkubáció során. Az ACD cső komponenseinek analízise során kiderült, hogy a savas pH felelős a vezikuláció gátlásáért.

Az ACD cső esetében megfigyelhető erős korreláció is arra utal, hogy ez az alvadésgátló rendszer sokkal alkalmasabb MV-k vizsgálatára, mint a korábban szinte kizárólagos módon alkalmazott Na-citrátos antikoaguláció.

ANTIGÉNSPECIFICITÁS ÉS IZOTÍPUS EGYIDEJŰ MEGHATÁROZÁSA REVERSE FLUOROSPOT ARRAY SEGÍTSÉGÉVEL

HERBÁTH MELINDA¹, PAPP KRISZTIÁN², PRECHL JÓZSEF²

¹Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest

²Magyar Tudományos Akadémia, Immunológiai Kutatócsoport, Budapest

Az ELISPOT módszer ritka sejtpopulációk [pl. ellenanyagtermelő B-sejtek (ETS), citokintermelő T-sejtek] detektálására alkalmas, segítségével az ellenanyag-termelés sejt szinten is vizsgálható. A FluoroSPOT – fluoreszcens detektálási módszerrel – még nagyobb érzékenységet és több hullámhosszon történő egyidejű mérést tesz lehetővé. Célunk egy, az antitestspecifitást és izotípust egyszerre, sejtek szintjén analizálni képes technika kifejlesztése volt.

A Reverse FluoroSPOT Array módszert nitrocellulózzal fedett tárgylemezeken teszteltük, amelynek kamrái nagy felületet biztosítanak egy-egy minta számára, és fluoreszcens microarray szkennelével könnyen és gyorsan leolvashatók. Egyszerre három hullámhosszon detektáltunk (antigénspecifitást és kétféle ellenanyag izotípust). Hibridómák keverékét és immunizált állatok lépsejtszuspenzióját vizsgáltuk, mérve a különböző izotípusú, antigénspecifikus ETS-ek mennyiségét. A 16 alchipes tárgylemezeket könnyűlánc-specifikus ellenanyagokkal fedtük, majd blokkolást követően ráértük a vizsgált sejtuszuspenziót. 37 °C-on történő inkubációt (12, 6, illetve 1 óra) követően a lemezeket mostuk, fluoreszcensen jelölt antigénnel és izotípusspecifikus ellenanyagokkal inkubáltuk, majd Axon GenePix 4200A szkennelével leolvastuk és ImageJ szoftverrel értékeltük.

A módszerrel a tárgylemezre kimért sejtek nagy százaléka visszamérhető. Az ELISPOT-nál megszokott 20 órás inkubáció akár 1–6 órára is csökkenthető. Az azonos izotípusú, de eltérő specificitású ETS-ek jól elkülöníthetők. A Reverz FluoroSPOT Array módszerrel kimutatható, hogy egy mintában hány sejt termel egy adott izotípusú ellenanyagot, és ezen ETS-ek

közül mennyi az antigénspecifikus sejtek száma. Ez az információ egyidejűleg két- vagy akár háromféle izotípusról is megállapítható.

A Reverse FluoroSPOT Array segítségével hatékonyan kimutatható egyidejűleg a mintában található B-sejtek specifikitása és a termelt ellenanyag izotípusa. A különböző B-sejtpopulációk egyidejűleg azonosíthatók, megszámlálhatók, így ezen módszer segítségével részletesebb képet kaphatunk az immunválaszról.

Kutatásunkat az NKTH-OTKA K68617 pályázata és a Magyar Tudományos Akadémia támogatja.

EGY KÜLÖNLEGES VÉRSEJTÍPUS; A SOKMAGVÚ ÓRIÁSSJEJTEK JELLEMZÉSE

HONTI VIKTOR^{*1}, LERNER ZITA^{*1}, MÁRKUS RÓBERT^{*1}, ZSÁMBOKI JÁNOS¹,
TÁPAI SZILVIA¹, LUKACSOVICH TAMÁS², PÁRDUZ ÁRPÁD³, CSORDÁS GÁBOR¹,
KURUCZ ÉVA¹, ANDÓ ISTVÁN¹

¹MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont Genetikai Intézet, Szeged

¹University of California Irvine, Irvine

¹MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biofizikai Intézet, Szeged

^{*}A szerzők azonos mértékben járultak hozzá az eredményekhez

Az ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) több évtizede szolgál modellszervezetként a veleszületett immunitás folyamatainak tanulmányozásához. Az utóbbi időben számos *Drosophila* faj teljes genomsekvenciája elérhetővé vált, így ezen fajokban is lehetőség nyílt az immunfolyamatok és a vérsejtek differenciálódásának molekuláris és genetikai szintű tanulmányozására. Annak eldöntésére, hogy a vérsejtekről és vérsejtképző kompartmentumokról szerzett ismeretek mennyiben általánosíthatók, tipizáltuk a törzsgyűjteményekben található *Drosophila* fajok vérsejtjeit. Azt tapasztaltuk, hogy az ananassae alcsoportba tartozó fajok vérképe eltér a többi faj vérképétől; míg ezekben a fajokban is megtalálhatók a keringésben a mikrobák bekebelezésére szolgáló plazmatociták és a melanizációs enzimeket hordozó kristálysejtek, a keringésben immunindukció hatására nem jelennek meg a *D. melanogaster*-re jellemző tokképző sejtek, a lamellociták. Helyettük egy eddig ismeretlen sejtípust; sokmagvú, tokképző óriássejteket találtunk (Multinucleated Giant Hemocyte), melyek nagyfokú hasonlóságot mutatnak az emlősök granulomáiban megtalálható óriássejtekkel. Az óriássejtek jellemzésére a *Drosophila* Genom Projectben is részt vevő *D. ananassae*-ban és *D. bipectinata*-ban használható markerrendszert és in vivo vizsgálatokra alkalmas transzgenikus riportert konstrukciókat hoztunk létre, melyek lehetővé tették a plazmatociták és az óriássejtek jellemzését és előalakjainak

azonosítását. A *D. melanogaster*-ben megfigyelttel szemben, az ananassae alcsoport fajaiban a központi nyirokszerv nem vesz részt a parazitoid elleni immunválaszban, a sokmagvú óriássejtek kizárólag a szesszilis szövetben és a keringésben differenciálódnak, osztódás nélkül, makrofág típusú (plazmatocita) sejtek fúziójával jönnek létre. Filopódium típusú nyúlványokat fejlesztenek, motilisak, és rendkívül hatékonyan vesznek részt a parazitoid darázs petéje körüli tok kialakításában és a parazitoid elpusztításában. Mivel az ananassae alcsoportra jellemző sokmagvú óriássejtek képződése és funkciója nagyon hasonló az emlősök makrofágszerű sejtjeinek fúziójával létrejövő sokmagvú óriássejtekéhez, ezek a sejtek modellként szolgálhatnak az emlősök krónikus immunfolyamatainak alaposabb megismeréséhez.

A MASP-1 HATÁSA AZ ENDOTHELSEJTEK CITOKINTERMELÉSÉRE

JANI PÉTER¹, MEGYERI MÁRTON², MAKÓ VERONIKA¹, KAJDÁCSI ERIKA¹,
GÁL PÉTER², CERVENAK LÁSZLÓ¹

¹Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Kutatólaboratórium, Budapest

²MTA Enzimológiai Intézet, Budapest

A mannózkötő lektinhez (MBL) kapcsolódó szerin-proteázoknak (MASP-1, -2, -3) a komplementrendszer aktiválásán kívül számos funkciójuk lehetséges. A MASP-1-ről korábban leírtuk, hogy – többek között – endothelsejt-aktiváló hatása is van. Ennek következményeként kialakuló citokinválasz nagysága és időkinetikája fontos szerepet játszhat az immunológiai folyamatok szabályozásában.

Kísérleteinkben humán köldökzsinórvéna endothelsejteket (HUVEC) használtunk. A rekombináns humán MASP-1 a teljes MASP-1 CCP1-CCP2-szerin-proteáz doménjeiből állt. A vizsgált citokinek termelődését ELISA- és xMAP-módszerekkel végeztük a protokollok gyári leírása alapján. A jelátviteli utakat specifikus gátlószerekkel blokkoltuk, míg a MASP-1 enzimaktivitását C1-inhibitorral gátoltuk. A CREB, illetve a JNK foszforilációját Western-blot és fluoreszcens mikroszkópos technikákkal mértük.

Korábban leírtuk a MASP-1 Ca²⁺ és p38-MAPK-aktiváló hatását. Ezek mellett a MASP-1-kezelés CREB, valamint JNK-foszforilációt is indukált. A MASP-1 dóziszfüggően emelte az IL-6 és IL-8 citokinek termelődését. Az említett citokintermelődés gátlható volt 24 órás inkubáció során a p38-MAPK és C1-inhibitorokkal az IL-6 esetében, míg kizárólag a p38-MAPK-inhibitornak volt hatása az IL-8 termelődésére. Ismert, hogy az endothelsejtek citokintermelése a raktározó vezikulumok kiürülésének következtében 24 óránál jóval gyorsabban is megvalósulhat. Méréseink szerint az IL-6 és IL-8 citokinek mRNS-szintje 2 órás MASP-1-kezelés után éri el a maximumát. Ezzel összefügg a citokinek fehérjeszintje is, amely 3

óránál mutatta a legnagyobb különbséget a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva. A 3 órás MASP-1-kezelés hatását mindkét citokin esetében gátolni lehetett a C1-inhibitorral, a p38-MAPK-, JNK- és NF κ B-inhibitorokkal, míg az ERK1-, -2- és PI3K-gátlóknak nem volt hatásuk. A MASP-1 által indukált citokinexpressziók mértéke összehasonlítható erősségű, de különböző kinetikával indukálják a TNF- α , az IL-6, IL-8 citokinek termelődését/kiürülését.

A MASP-1-indukált endothelsejt-aktiváció a Ca-közvetített, p38-MAPK, a CREB és a JNK jelátviteli útvonalakkal lehet jellemezni. Ennek eredménye egy olyan gyors és differenciált citokinexpressziós mintázat, amely leginkább a neutrofil granulocyták aktivációját válthatja ki például az IL-8 termelésén keresztül. Ezáltal a komplementrendszer még a C3a és a C5a keletkezése előtti fázisban képes a MASP-1-en és az endothelsejteken keresztül szabályozni az antimikrobiális immunválaszt.

Támogatás: OTKA K100684 (CL), Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (BO/00218/10/8, CL)

ENDOTHELAKTIVÁCIÓ HEREDITER ANGIOÖDÉMÁS ROHAMOKBAN

KAJDÁCSI ERIKA¹, JANI PÉTER KÁROLY¹, CSUKA DOROTTYA¹, VARGA LILIAN¹, FARKAS HENRIETTE¹, JAN KUNDE², PROHÁSZKA ZOLTÁN¹, CERVENAK LÁSZLÓ¹

¹Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Kutatólaboratórium, Budapest

²Department of Global Medical Affairs, BRAHMS GmbH, Hennigsdorf, Germany

Bevezetés. A C1-inhibitor (C1-INH) hiánya következtében kialakuló hereditér angioneurotikus ödéma (HANO) autoszomalisan domináns módon öröklődő betegség, amelyben a tünetek kialakulásáért a bradikinin-túltermelődés a felelős. Viszszatérő subcutan, hasi, illetve felső légúti ödémás rohamok jellemzik, amelyek során a folyadék az érpályát elhagyva jut a szövetek közé.

Az endothelsejtek barrierfunkciójuk révén részt vesznek a vaszkuláris integritás fenntartásában. Ezt a barrierfunkciót a permeabilitásuk szabályozásával tartják fenn, amelyet különböző, a szervezetben lezajló folyamatok megváltoztathatnak: mérsékelhetik vagy fokozhatják azt.

Előző vizsgálatunkban – melyben 4 endothelsejtekre jellemző marker [von Willebrand-faktor (vWF) antigén (vWF:Ag), vWF kollagénekötő képesség (vWF:CBA), E-szelektin (E-sel), endotelin-1 (ET-1)] szintjét vizsgáltuk – leírtuk, hogy rohammentes időszakban valódi endothelaktivációt nem tudtunk kimutatni a HANO-s betegekben. Arról még egyáltalán nincs adat, hogy mi történik a betegekben roham alatt, milyen esetleges eltéréseket figyelhetünk meg az endothelsejtek vonatkozásában.

Módszerek. 19 HANO-s beteg rohammentes időszakból származó mintáit hasonlítottuk össze saját roham alatt levett mintáikkal. Az ET-1-szintet BRAHMS KRYPTOR módszerrel határoztuk meg EDTA-plazmából. Az E-sel-szintet R&D DuoSet ELISA-val, vWF:Ag-t házi ELISA-val, vWF:CBA-t szintén házi ELISA-módszerrel mértük citráts plazmából.

Eredmények. Mind a négy általunk vizsgált endothelmarker szintje szignifikánsan megemelkedett (medián értékek: g/ml) 82,06-ról 177,8-ra, vWF:CBA (%) 63,1-ről 435,1-re, E-sel (ng/ml) mvWF:Ag 17,06-ről 19,13-ra, ET-1 (pM) 35-ről 38-ra a betegek roham alatt levett mintáiban mérve. Fontos megemlíteni, hogy az endothelfunkció-zavar kifejezettebb a nem dohányzó betegek körében. Egy adott beteg több rohamát vizsgálva az endothelsejt-biomarkerek hasonló változást mutattak. Ezzel szemben különböző betegek rohamaiban a biomarkermintázat heterogén volt.

Következtetések. Az endothelmarkerek emelkedett szintje endothelaktivációra utal a HANO-s rohamok alatt. Az is megállapítható, hogy a dohányzó betegekben már a dohányzás miatt kialakult egyfajta endothelium-funkciózavar, amit az ödémás roham már csak kevésbé súlyosbít, míg a nem dohányzóknál kifejezettebb endothelaktivációt láthatunk a rohamok alatt. Az, hogy az egyes betegek rohamai alatt hasonló irányú és mértékű eltéréseket tapasztalhatunk a mért endothelmarkerekben, arra utalhat, hogy valamilyen (a C1-INH-től eltérő) genetikai tényező is szerepet játszhat a rohamok kialakulásában.

Támogatás: OTKA 100886, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (BO/00218/10/8, CL)

AZ NKX2.3 HOMEODOMÉN TRANZKRIPCIÓS FAKTOR SZEREPE A MUCOSALIS NYIROKSZÖVEK VASZKULÁRIS ADDRESSZIN PREFERENCIÁJÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN

KELLERMAYER ZOLTÁN, MIHALJ MARTINA, BALOGH PÉTER

PTE-KK Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

Bevezetés. Az Nkx2.3 transzkripciós faktor fontos szerepet játszik a mucosalis addresszin sejtadhéziós molekula (MAdCAM-1) expressziójában, ezenkívül a gyulladásos bélbetegségek egyik lehetséges szuszeptibilitási faktoraként azonosították. Az Nkx2.3-/- egerekre jellemző endothelialis MAdCAM-1-hiány ellenére Peyer-plakkok (PP) és mesenterialis nyirokcsomók (mLN) is kialakulnak. Mivel a bélasszociált nyirokcsövekbe történő lymphocita megtelepedéshez a magas endothelú venulákon (HEV) expresszáldó MAdCAM-1 jelenléte szükséges, feltételezésünk szerint ennek hiányában egy ettől eltérő mucosalis nyirokcsöveti homing folyamat zajlik Nkx2.3-/- egerekben.

Módszerek. A PP HEV fenotípust [perifériás nyirokcsomó addresszin (PNAd) és MAdCAM-1 addresszin expresszió, CCL21

és CXCL13 kemokin termelés] különböző életkorokban immunfluoreszcens eljárással vizsgáltuk Nkx2.3/- és vad típusú BALB/c egereken. A PNAd vázfehérjék és PNAd szulfoglukopitópot képző enzimek RNS-szintjeit qPCR-tesztekkel elemeztük. A lymphocytá homing molekuláris mechanizmusát antiadresszin antitestekkel való kezelés után in vivo beadott, fluoreszcensjelölt lymphocyták követésével vizsgáltuk. A homing mértékét áramlási citometriás mérésekkel állapítottuk meg.

Eredmények. A mutáns PP-ben és mLN-ben fokozott luminalis PNAd fehérje expressziót találtunk, mely mRNS-szinten is kimutatható, a módosító enzimek magasabb mRNS-mennyiségével együtt. A fluoreszcensen jelölt lymphocyták megapadását PNAd ellenes MECA-79 antitesttel gátolni tudtuk Nkx2.3/- bélben, az anti-MAdCAM-1 antitestnek nem volt gátló hatása. Újszülött mutáns egerek belében ugyan kimutatható endothelialis MAdCAM-1, viszont egyhónapos korra a lymphoid kompartmentekben a PNAd a domináns addresszin, míg a bél nem lymphoid részein a PNAd fokozódása nem figyelhető meg. A mutáns PP PNAd-dependenciáját alátámasztja a megtelepedett lymphoid sejtek L-szelektin/a4b7 integrin homing receptor mintázata is.

Következtetések. Eredményeink azt mutatják, hogy Nkx2.3/- egerekben az érasszociált MAdCAM-1 hiányában megemelkedett a PNAd, ez viszont csak részben felelős a bélasszociált nyirokszövetbe történő lymphocytamegtelepedésért. A MAdCAM-1 PNAd általi helyettesítése a mucosális HEV jelentékeny plaszticitására utal.

FUNKCIÓNYERÉSES MUTÁCIÓK VIZSGÁLATA ATÍPUSOS HAEMOLYTICUS URAEMIÁS SZINDRÓMÁS BETEGEKBEN

KISS NÓRA¹, SZILÁGYI ÁGNES¹, VARGA LILIAN¹, CHRISTINA MITTERBAUER², PROHÁSZKA ZOLTÁN¹

¹Semmelweis Egyetem III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Kutatólaboratórium

²Wilhelminenspital der Stadt Wien, Bécs, Ausztria

Bevezetés. Az atípusos haemolyticus uraemiás szindróma (aHUS) a thromboticus microangiopathiák közé tartozó ritka kórkép, amely a komplementrendszer alternatív reakcióútjának fokozott működésére vezethető vissza. Ennek lehetséges oka a komplement regulátor fehérjék (H-faktor, I-faktor, MCP) funkcióvesztéses (loss of function) vagy a C3-konvertáz komponenseinek (B-faktor, C3) funkciónyeréses (gain of function) mutációja. Célul tűztük ki a C3 (C3) és a B-faktor (CFB) gének mutációanalízisére alkalmas módszerek beállítását, és ezek alkalmazását aHUS betegek vizsgálatára.

Módszerek. A vizsgálatba 14 aHUS beteget vontunk be. A komplement gének analízise PCR-t követően kétirányú szekvenálással történt. A komplementfehérjék szintjét ELISA és radiális immundiffúzió módszerekkel vizsgáltuk.

Eredmények. Sikeresen beállítottuk a C3 41 exonjában és a BF 18 exonjában lévő mutációk szűrésére alkalmas módszereket. A vizsgált 14 beteg 84%-ában találtunk a komplementaktiváció szabályzásának zavarát okozó mutációkat, ami megfelel az irodalmi adatoknak (H-faktor 37%, I-faktor 5,3%, MCP 5,3%, B-faktor 5,3%, C3 5,3%).

Egy beteg esetében két C3-mutációt (K104E és D1457H) azonosítottunk, amelyeket korábban aHUS-ban nem írtak le, a fiatal nőbeteg HUS-epizódja születést követően alakult ki, és a szérumkomplement-profil aktív betegségi szakaszban kóros volt (csökkent klasszikus és alternatív út aktivitás, alacsony C3-, I-faktor- és B-faktor-szint). Egy másik fiatal nőbeteg mintájában B-faktor-mutációt találtunk (K323E), amelyet korábban már azonosítottak egy aHUS betegben. Ez utóbbi betegnek eddig összesen 3 HUS-epizódja volt, és szérumkomplement-profilja tartósan kóros (csökkent klasszikus és alternatív út aktivitás, alacsony C3 és B-faktor szint).

Következtetések. Egy-egy beteg esetében találtunk a C3bBb enzimkomplex kialakításában részt vevő C3 és B-faktor génjében funkciónyeréses, tartósan kóros komplement-profil eredményező mutációkat. Az azonosított mutációkat hordozó, módosult fehérjéket tartalmazó komplexek feltehetőleg ellenállóbbak a DAF és H-faktor fehérjék reguláló hatásával szemben, vagy a mutáns fehérjék nagyobb affinitással kötődhetnek egymáshoz, ezáltal okozva az alternatív út megnövekedett aktivitását.

A genetikai eredményekkel is alátámasztott korai komplementdiagnosztikának nagy jelentősége van aHUS betegek esetében, mert a terápiára alkalmazható C5-gátló monoklonális antitest (eculizumab) már hazánkban is elérhető.

AZ ONKOFÖTÁLIS FIBRONEKTIN (EDA+FN) SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A KERATINOCYTA NÖVEKEDÉSI FAKTOR (KGF) SZABÁLYOZÁSÁBAN NORMÁL HUMÁN FIBROBLASTOKBAN

KONCZNÉ GUBÁN BARBARA, VAS KRISZTINA, BEBES ATTILA, GÖBLÖS ANIKÓ, KORMOS BERNADETT, SZÉLL MÁRTA, KEMÉNY LAJOS, BATA-CSÖRGŐ ZSUZSANNA

Szegedi Tudományegyetem, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

Mivel a pikkelysömörös betegek tünetmentes dermisében lévő fibroblastok kórosan nagy mennyiségben termelik az onkofötális fibronektint (EDA+FN) és a keratinocytá növekedési faktort (KGF), jelen vizsgálatunkban célul tűztük ki a KGF és az EDA+FN közötti lehetséges szabályozási mechanizmusok vizsgálatát.

Normál humán fibroblastokat különböző koncentrációjú exogén humán rekombináns KGF-fel kezeltünk, majd 24 óra elteltével vizsgáltuk az EDA+FN gén- és fehérjeszintű kifejeződését valós idejű RT-PCR, immuncitokémia és áramlási citometria segítségével. Az EDA+FN mRNS- (n = 4) és fehérje-

($n = 4$) szinten is szignifikánsan emelkedett 25 ng/ml koncentrációjú KGF-kezelés hatására.

Ezt követően normál humán fibroblastokban az EDA+FN gén specifikus csendesítését végeztük el, amihez az OriGene Trilencer-27 siRNS duplexeit használtuk. Az EDA+FN gén expressziója a csendesítés hatására 90%-os csökkenést mutatott. A hatékony transzfekciót követően 96 órával az EDA+FN mennyisége fehérjeszinten $1/3$ -dal csökkent. Az EDA+FN gén csendesített minták felülűszojában a KGF kifejeződését fehérjeszinten ELISA-technikával vizsgáltuk. A KGF-termelés az EDA+FN-csendesített fibroblastokban növekedett a kontrollhoz képest.

Eredményeink arra utalnak, hogy az irodalomban a fibroblastokban eddig leírt FGFR-receptor IIIc variánson kívül a KGF-specifikus IIIb variáns is jelen van a sejtek felszínén. A receptorvariánshoz kötődő exogén rekombináns KGF fokozza a sejtek EDA+FN-termelését. Az EDA+FN-kifejeződés változása eredményeink szerint hatással van a sejtek KGF-kibocsátására.

ACETIL-KOLIN-RECEPTORRAL REAGÁLÓ AUTOANTITESTEK PRIMER ÉS SZEKUNDER SJÖGREN-SZINDRÓMÁBAN

KOVÁCS LÁSZLÓ¹, DEÁK MAGDOLNA¹, SZVETNIK ATTILA², BALOG ATTILA¹, SOHÁR NICOLETTE³, VARGA RENÁTA⁴, TÓTH GÁBOR⁵, KISS MÁRIA⁶

¹Szegedi TE Általános Orvostudományi Kar Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Reumatológiai Klinika, Szeged

²Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Alapítvány, Biotechnológiai Intézet, Szeged

³Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Szemészeti Klinika, Szeged

⁴Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Klinika, Szeged

⁵Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Vegytani Intézet, Szeged

⁶Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

Célkitűzések. A muscarinszerű acetil-kolin-receptor 3. altípusával (m3AChR) reagáló autoantitestek több munkacsoport eredményei szerint gyakran fordulnak elő primer Sjögren-szindrómában (pSS). Felmerült patogenetikai szerepük is azáltal, hogy a paraszimpatikus ingerek gátlása révén csökkentenék a könny- és nyáltermelést. Ugyanakkor nem áll rendelkezésre megfelelő immundiagnosztikai eszköz a kimutatásukra, és nem ismert a szerepük szekunder SS-ben (sSS). A szerzők célja az volt, hogy többféle antigéndetermináns epitóp és antigén-előállítás módszer segítségével ELISA-módszert dolgozzanak ki az anti-m3AChR antitestek kimuta-

tására, és felmérjék gyakoriságukat pSS-ban, szisztemás lupus erythematosusban (SLE) és reumatoid arthritisben (RA).

Módszerek. 65 RA-s (54 nő, átlagéletkor 58 év), 103 SLE-s (94 nő, 48 év), 76 pSS-es (74 nő, 56 év) és 50 egészséges kontroll személy mintáit vizsgálták. Szem- és szájszárazságra vonatkozó validált kérdőív, valamint a könny- és nyáltermelés mérése alapján meghatározták az SLE-hez és RA-hoz társuló szekunder sicca tünetcsoport gyakoriságát. Számítógépes predikció segítségével három immundomináns epitópot azonosítottak, amelyeket többféle módszerrel is előállítottak: szilárd fázisú peptidszintézissel, rekombináns fúziós fehérje formában glutation-S-transzferázzal (GST) konjugálva, és multiplex módon bovin szérum albuminhoz (BSA) kapcsolva. Az antigének és a szérumok reakcióját ELISA-módszerrel tesztelték.

Eredmények. 14 RA-s betegnél (21,5%) és 27 SLE-s betegnél (26,2%) volt igazolható szekunder sicca tünetcsoport jelenléte. A predikció alapján a második (AGSE) és a harmadik (YNIP) extracelluláris hurkon, valamint egy intracellulárisan (TRIC) elhelyezkedő szekvenciát készítettek el peptid formában. Peptid formában mindhárom antigén szignifikánsan gyakrabban reagált a betegek szérumával, mint az egészséges kontrollokkal, de az egyes betegcsoportok között nem volt különbség az antitestek előfordulásában vagy mennyiségében. Ha azonban GST-vel konjugált formában prezentálták az antigént, a GST-AGSE és a GST-YNIP elleni autoantitestek gyakorisága pSS-ben (76%, ill. 87%) és SLE-ben (68%, ill. 40%) is magasabb volt nemcsak a kontrolloknál (42%, ill. 0%), hanem az RA-s betegeknél is (33%, ill. 35%), a GST-YNIP pedig a pSS-es betegeket is elkülönítette a többi betegcsoporttól. A BSA-val konjugált AGSE-szekvencia elleni antitestek alapján, hasonlóan a peptid-ELISA-hoz, nem lehetett differenciálni a három betegségekben szenvedő betegek között. Az egyes anti-m3AChR antitestek azonos arányban fordultak elő a sicca szindrómával rendelkező, illetve nem rendelkező RA-s és SLE-s betegek között.

Következtetések. m3AChR-rel reagáló autoantitestek a pSS-es betegek jelentős hányadában előfordulnak. A szerzők eredményei a második és harmadik extracelluláris hurkon elhelyezkedő epitópok antigenikus szerepét támogatják. Az antigének GST-vel fúziós formában előállítva hatékonyabb immunológiai felismerést eredményeznek, ami felveti, hogy konformációs epitópokról van szó. Az YNIP peptid elleni autoantitestek kimutatásának differenciáldiagnosztikai jelentősége is lehet.

A MESENCHYMALIS ÖSSEJTEK ÁLTAL TERMELT GALEKTIN-1 AZ ÉRKÉPZŐDÉS SERKENTÉSÉVEL BEFOLYÁSOLJA A TUMORFEJLŐDÉST

KRISTON-PÁL ÉVA^{*1}, SZEKENI GÁBOR JÁNOS^{*1}, NOVÁK JULIANNÁ², CZIBULA ÁGNES², SZABÓ ENIKŐ², FAJKA-BOJA ROBERTA², UHER FERENC³, KRENÁCS LÁSZLÓ⁴, MONOSTORI ÉVA¹

¹Magyar Tudományos Akadémia, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Szeged

²Magyar Tudományos Akadémia, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Szeged

³Országos Hematológiai és Vértranszfúziós Intézet, Budapest

⁴Daganatpatológiai és Molekuláris Diagnosztikai Laboratórium, Szeged

* Egyenlő mértékben vettek részt a kutatásban

Bevezetés. A szilárd tumorok a növekedésüket támogató tumorasszociált kötőszövet jelenlétét igénylik. A kötőszöveti elemek eredete nem teljesen tisztázott, de egyik forrásuk a csontvelői mesenchymalis őssejtek (MSC) lehetnek, melyekről leírták, hogy a tumorszövetbe vándorolva támogatják annak fejlődését. Eddigi eredményeink alapján a vad típusú MSC-k, amelyek nagy mennyiségben fejezik ki a galektin-1 (Gal-1) proangiogén és immunosuppresszív fehérjét, támogatják a 4T1 emlőkarcinóma növekedését és metasztázisképzését. Jelen munka az MSC-k által termelt Gal-1 tumorfejlődésre gyakorolt hatásának mélyebb megértésére irányul.

Módszerek. Vad típusú (vtMSC) és Gal-1 knockout (MSCGal-1/-) MSC sejtvonalakat alapítottunk. QPCR-technikával összehasonlítottuk, hogy az MSC sejtvonalak különböznek-e az immunosuppresszív, ill. a proangiogén faktorok termelésében. Intravénásan kezeltünk tapintható méretű 4T1 emlőkarcinómás egereket MSC-kel, és mértük a primer tumor növekedését. Az MSC-k immunosuppresszív hatásának tesztelésére X-SCID egereket oltottunk B16F10 melanoma- és MSC-sejtekkel, és vizsgáltuk a tumor térfogatának változását. Az érképződés teszteléséhez elvégeztük a tumorok erezettségének morfometrikus analízisét, valamint in vitro rendszerben együtt tenyésztettünk MSC-ket H5V endotheliomasejtekkel TDG (thiodigalaktozid, a Gal-1 ligandja) jelenlétében, és szoftveresen mértük a kialakuló kapilláriszerű struktúrák hosszát.

Eredmények. A vtMSC és MSCGal-1/- a vizsgált immunosuppresszív (TGF- β , COX2) és érképződést serkentő (VEGFA, ANGPT1) faktorokat egyforma mennyiségben expresszálják. Annak eldöntésére, hogy a Gal-1 immunosuppresszív faktorként hat-e, X-SCID egerekbe B16F10 melanomasejteket oltottunk vtMSC-vel, ill. MSCGal-1/-vel. A MSCGal-1/- nem serkentette, míg a vtMSC drámaian felgyorsította a melanoma növekedését. A vtMSC-vel együtt oltott 4T1 emlőkarcinóma erezettsége gazdagabb volt, mint a csak egyedül 4T1-gyel oltott vagy 4T1 és MSCGal-1/- koinjektált egerek tumora. In vit-

ro H5V és MSC kokultúra kapilláriszerű struktúráinak hossza drasztikusan nagyobb volt a Gal-1-et expresszáló vtMSC jelenlétében, mint Gal-1 knockout MSC-vel, továbbá H5V és vtMSC kokultúrában a TDG-kezelést követően szignifikánsan kevesebb struktúrát lehetett lemérni, mint a szacharózzel kezelt kontrollban. A tapintható 4T1 emlőtumorral rendelkező egerek tumornövekedését az intravénás MSCGal-1/-kezelés nem befolyásolta, míg a vtMSC-kezelés szignifikánsan serkentette.

Következtetés. A Gal-1-et termelő vad típusú mesenchymalis őssejtek szignifikánsan serkentik az emlőkarcinóma növekedését függetlenül attól, hogy intravénásan adagoljuk a tumoros egerekbe, vagy a tumorsejtekkel oltjuk együtt ortotopikusan. Kimutattuk, hogy az MSC-eredetű Gal-1 nem immunosuppresszió által, hanem az érképződés serkentése révén tölt be meghatározó szerepet a tumornövekedésben.

VÉRKÉPZŐ ÖSSEJT ÁTÜLTETÉS NON-SCID IMMUNDEFEKTUSOKBAN

KRIVÁN GERGELY¹, BENYÓ GÁBOR¹, GODA VERA¹, ÚJHELYI ENIKŐ¹, KASSA CSABA¹, SINKÓ JÁNOS¹, MARÓDI LÁSZLÓ², KÁLLAY KRISZTIÁN¹

¹Egyesített Szent István és Szent László Kórház, Budapest

²Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Infektológiai és Gyermekeimmunológiai Tanszék

A vérképző őssejt átültetés csaknem fél évszázada alkalmazott módszer a veleszületett súlyos immunhiányos állapotok kezelésében. A súlyos kombinált immundefektusokon (SCID) túl számos olyan primer immundefektus ismert, amelyekben az évek során jelentkező súlyos és visszatérő fertőzések miatt a betegek rendszerint nem érik meg a felnőttkort, ezért transzplantáció indokolt. A szerzők e heterogén betegcsoportban szenvedő betegekben végzett őssejtátültetések jellemzőit és eredményeit foglalják össze.

Az 1992. 01. 01. és 2012. 09. 01. közötti időszakban 31 (17 SCID, 14 non-SCID) primer immundefektusban szenvedő betegnél végeztünk vérképző őssejt átültetést a Szent László Kórházban. A non-SCID betegek diagnózis szerinti megoszlása: 5 Wiskott-Aldrich-szindróma, 2 X-hez kötött lymphoproliferatív szindróma (XLP), 2 krónikus granulomatosis (CGD), 1 leukocytaadhéziós defektus, 1 Schwachman-Diamond-szindróma, 1 WHIM-szindróma, 1 CD40-ligand-defektus, 1 DOCK8-defektus. A betegeknél a klinikai diagnózist genetikai vizsgálatokkal is alátámasztottuk. Fiú/lány arány: 11/3. A gyermekek átlagéletkora a transzplantáció idején medián 4,2 (0,88-17,76) év volt. A beavatkozást 4 esetben családi, 10 betegnél HLA-identikus idegen donorral végezték. Két esetben graftelégtelenség miatt retranszplantációra került sor. A primer graft megoszlás: 8 csontvelői, 2 perifériás vér, 4 köldök-vér őssejt. A transzplantáció során megfigyelt leggyakoribb szövődemény az infekció volt, grade II-IV. akut graft versus

host betegség 3 alkalommal fordult elő. Betegeink közül hármat veszítettünk el: 1 akut GvH, 1 veleszületett szívfejlődési rendellenesség, 1 szepszis. A betegeknél túlnyomórészt donoreredetű vérképzést értünk el, a hiányzó immunfunkciók korrekciójával. Az összesített túlélés medián 4,02 (0,32–7,35) év nyomon követési idővel 75% volt.

A vérképző őssejt transzplantáció biztonságos és eredményesen alkalmazható eljárás a veleszületett immunhiányos állapotok korrekciójában. A beavatkozást a transzplantációs szövődmények és a késői mellékhatások csökkentése, valamint a jobb életminőség elérése érdekében korai életkorban – még a társbetegségek és a fertőzések miatti irreverzibilis szervkárosodások kialakulása előtt – célszerű elvégezni.

A THYMUSEPITHEL ÖREGEDÉSÉNEK MOLEKULÁRIS MECHANIZMUSA

KVÉLL KRISZTIÁN, TALABÉR GERGELY, VARECZA ZOLTÁN, MISKEI GYÖRGY, FEJES ANIKÓ, JAN-ERIK WERRY, GÁL PETRA, PONGRÁCZ JUDIT

Pécsi Tudományegyetem, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

Minden fejlett társadalomban növekszik az idős emberek aránya, mely jelentős egészségügyi problémákkal és gazdasági terhekkel jár. Ezért szükséges az öregedésért felelős molekuláris mechanizmusok kutatása. A thymus jelentős szövettani változáson megy keresztül az öregedés során, melynek élettani hatása az immunválasz gyengülése a de novo T-sejtszelekció gátlása miatt. Munkánk a thymus öregedéséért felelős molekuláris mechanizmusok feltérképezését célozza, mely hozzájárulhat az immunrendszer öregedésének megismeréséhez és terápiás célú lassításához. A thymusepithel öregedése folyamán csökken a Wnt, ezen belül a Wnt4 glikoprotein szekréciója, melynek következtében csökken a thymusepithelsejtek identitása feletti szoros kontroll. Ezzel párhuzamosan az öregedés folyamán növekszik a LAP2 α fehérje expressziója, mely fehérje mesenchymalis elemekben ismertén elősegíti a zsírsejt irányú differenciálódást. A csökkenő epithelidentitás, illetve a párhuzamosan növekvő zsírsejt irányú differenciálódás, amelynek alapját az epithelsejtek epitheliumból mesenchymalis irányú átalakulása teremti meg, együttesen felelős az epithelsejt zsírsejt irányú transz-differenciálódásáért, végső soron pedig a thymus zsírsejtes involúciójáért. Eredményeink sejtvonalakon, egér primer embrionális, felnőtt és időskorú thymus epithelsejtjeiben egyaránt megerősítést nyertek. A thymusepithelsejtekben szteroid hatására gyorsan lezajló molekuláris szintű elváltozások jelentős hasonlóságot mutatnak a fent ismertetett, lassú ütemben zajló fiziológias öregedést kísérő molekuláris biológiai eltérésekkel. Ezek alapján az egérnek ip. beadott szteroid felgyorsított ütemű thymusepithelöregedés-modell

kínál, illetve felhívja a figyelmet a farmakológiailag releváns dózisban adott szteroidkezelés kevésbé közismert thymusepithelre kifejtett mellékhatásaira. Munkánk során transz-differenciációs noxa (LAP2 α vagy szteroid) hatására kialakuló génexpressziós lipid signature is meghatározásra került molekuláris biológiai szinten. Kutatásaink arra is rávilágítottak, hogy a zsírsejtvé alakulás preferenciálisan a corticalis epitheliumba jellemző a thymusban.

A thymus öregedéséért felelős molekuláris mechanizmusok azonosítása jelentős kihatással bír. Ezen mechanizmusok gátlása közvetlen haszonnal jár felnőtt és idős kemoterápiában és/vagy sugárterápiában részesülő, illetve csontvelő-transzplantáción áteső betegek esetében, akikben nehézkes a thymocyta megkapadása, valamint gyakoriak a visszatérő fertőzések az előregedett thymusstroma következtében.

A SEJTADHÉZIÓ ÉS -MIGRÁCIÓ, MINT TUMORTERÁPIÁS CÉLPONTOK – AZ OT20-W-S-EWS KONJUGÁTUMOK SEJTÉLETTANI HATÁSAI EGÉR ÉS HUMÁN SEJTVONALAKON

LÁNG JÚLIA ANNA¹, POMÁZI KATALIN¹, LÁNG ORSOLYA¹, BÖSZE SZILVIA², MEZŐ GÁBOR², KÖHIDAI LÁSZLÓ¹

¹Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

²MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest

A primer tumorok áttétképzése soklépcsős folyamat, amelynek legfontosabb lépései a tumorsejtek leszakadása, bekerülése az érpályába, megapadása, majd kilépése a környező szövetekbe és kolonizációja. A daganatos sejtek primer tumorról való leszakadása bekövetkezhet a sebészi úton történő tumoreltávolítás során is. Az áttétképzés megakadályozására klinikai szempontból a folyamat első lépésének, a tumorsejtek leszakadásának gátlása a legelőnyösebb, amely a sejtek adhéziónak fokozásával és migrációs képességük csökkentésével valósítható meg. Az e célra alkalmas terápiás szerek ún. kemotaxis/adhézió aránya tehát <1. Munkánk célja a citokinreceptorok extracelluláris doménjében megtalálható W-S-EWS peptidek, valamint ezek oligonukleotidokhoz (OT20) konjugált formáinak, mint a potenciális tumorsejtszóródást csökkentő molekuláknak vizsgálata volt. Kísérleteink során a kandidáns molekulák i) sejtmigrációra és ii) adhézióra kifejtett hatását vizsgáltuk 10^{-12} M – 10^{-6} M koncentrációtartományban egy egér (J774.2) és két humán (MonoMac6 és THP-1) monocytás leukémia sejtvonalon. A sejtmigrációt két-kamrás rendszerben (NeuroProbe), az adhéziót impedimetriás módszerrel (xCELLigence, Roche) mértük. A kandidáns molekulák migrációra és adhézióra kifejtett szimultán hatását a kemotaxis/adhézió arány kiszámításával fejeztük ki. Az OT20 konjugátumok 1, 5, 10, 15, 30, ill. 60 perces inkubációt követő internalizációját karboxifluoreszceines jelölés segítségével

vel áramlási citometriával vizsgáltuk. Eredményeink alapján elmondható, hogy míg a sejtadhéziót csak az SEWS tetrapeptid módosította jelentősen (MonoMac6 sejteken 10^{-12} – 10^{-6} M csökkentette, 10^{-7} M növelte), addig a migrációt a peptidek és a konjugátumok egyaránt szignifikánsan befolyásolták valamennyi sejtvonalnál. Csökkent migrációs választ indukáltak J774.2 sejteknél az EWS, OT20-EWS és az SEWS; illetve a THP-1 sejteknél a WSEWS és az OT20-WSEWS. A migrációs képességet a J774.2 sejteknél az OT20-SEWS, míg a THP-1 sejteknél az SEWS és az OT20-SEWS fokozta jelentősen. A MonoMac6 sejtek migrációját mind a 6 vizsgált molekula fokozta. A konjugátumok internalizációja 10^{-6} M-os koncentráció és 60 perces inkubáció mellett volt megfigyelhető: a negatív kontrollhoz viszonyított átlagos fluoreszcencia 128–143% volt. Összegezve elmondhatjuk, hogy a J774.2 sejteken tapasztalt jelentős migrációscsökkentő és enyhe adhéziófokozó hatása révén az OT20-EWS konjugátum bírt egyedül széles koncentrációtartományban 1-nél kisebb kemotaxis/adhézió aránnyal. Így optimális tumorszóródás-csökkentő molekula lehet; egérben történő in vivo vizsgálatát munkánk következő fázisában kívánjuk megvalósítani.

MASP-1 KOMPLEMENTFEHÉRJE TISZTÍTÁSA HUMÁN SZÉRUMBÓL

MEGYERI MÁRTON¹, JANI PÉTER², KAJDÁCSI ERIKA², SCHWANER ENDRE²,
DEBRECZENI MÁRTA LÍDIA², STEFFEN THIEL³, ZÁVODSZKY PÉTER¹,
CERVENAK LÁSZLÓ², GÁL PÉTER¹

¹MTA, Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Budapest

²Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Kutatólabor, Budapest

³Department of Biomedicine, Aarhus University, Dánia

Bevezetés. A komplementrendszer egyes elemeiről összegyűlt információ egyrészt a különböző komplement hiánybetegségek vizsgálatából és állatkísérletekből, másrészt a plazmából/szérumból tisztított, ill. rekombináns formában előállított fehérjékkel végzett kísérletekből származik. Az MBL-asszociált szerin-proteáz-1 (MASP-1) működéséről, mint a lektin útvonal egyik szerin-proteázáról a legtöbb komplementfehérjéhez képest kevés információval rendelkezünk, aminek részben az is oka lehet, hogy eddig nem sikerült megoldani a nagy mennyiségű aktív MASP-1 tisztítását szérumból. Célunk volt tehát a MASP-1 szérumból történő tisztításának kidolgozása, és a tisztított MASP-1 tulajdonságainak összehasonlítása a rekombináns MASP-1-gyel.

Módszerek. A szérumot 10 mg/ml rekombináns MBL-lel inkubáltuk, majd mannán-szefaróz 4B gyantán, mannóz elúcióval affinitáskromatográfiát végeztünk. A frakciók MBL- és MASP-1-koncentrációjának meghatározására időfelbontásos immunfluorimetriát, az enzimaktivitás meghatározásához

Western-blotot és fluoreszcens szubsztát hasítási analízist használtunk. Endothelsejtmodellként HUVEC-et használtunk, a Ca^{2+} -mobilizációt Fluo-4-AM festék segítségével, fluoreszcens mikroszkóppal mértük.

Eredmények. Az emberi szérumból MASP-1-et – annak ellenére, hogy átlagosan 11 mg/ml a plazmakoncentrációja – csak nagyon kis mennyiségben tudtunk tisztítani (4–8 mg/100 ml szérum) hagyományos, mannán-szefaróz 4B affinitás kromatográfiával, ahol az oszlophoz az MBL/MASP-1 komplex kötődik ki. Minthogy a MASP-1 más mintázatfelismerő molekulákkal is komplexet képez, feltehető volt, hogy nagy része nem MBL-lel asszociálódik. Ezért rekombináns MBL előzetes hozzáadásával toltuk el az egyensúlyt, és így 20-szoros mennyiségű MASP-1-et tudtunk tisztítani (160 mg/100 ml szérum). Az így tisztított MASP-1 a folyamat során aktiválódott. Az aktív, tisztított MASP-1-et összehasonlítottuk a korábban használt rekombináns MASP-1-gyel endothelsejt Ca -mobilizációs tesztben. A szérumból tisztított MASP-1 szintén képes volt kiváltani Ca -szignalizációt HUVEC-ben, bár valamivel gyengébben, mint a rekombináns forma.

Következtetések. Nagy mennyiségű MASP-1-et csak rekombináns MBL jelenlétében sikerült tisztítani. Ez felveti, hogy a szervezetben a MASP-1 többsége fikolinokhoz kapcsolódik. A tisztított MASP-1 hasonló Ca -mobilizációt váltott ki endothelsejtekből, mint a rekombináns katalitikus fragmentum, ami egyrészt validálja eddigi, rekombináns MASP-1-gyel végzett kísérleteinket, másrészt valószínűsíti, hogy az enzimatisz tulajdonságok modellezésére továbbra is használható lesz a rekombináns molekula.

GALECTIN-9/TIM-3 ÚTVONAL SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA PRAEECLAMPSIÁBAN

MEGGYES MÁTYÁS¹, PALKOVICS TAMÁS¹, MIKÓ ÉVA¹, BOGÁR BARBARA¹,
BARAKONYI ALÍZ¹, SZEKERES-BARTHÓ JÚLIA¹, ILLÉS ZSOLT², FARKAS BÁLINT³,
TAMÁS PÉTER³, VÁRNAGY ÁKOS³, SZEREDAI LÁSZLÓ¹

¹Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet

²Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Neurológiai Klinika

³Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

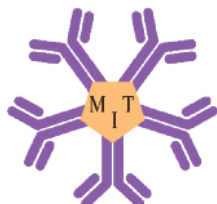
Bevezetés. A praeclampsia (PE) a humán terhességek súlyos komplikációja, melynek etiológiája és patogenezise mindmáig csak részben tisztázott. Tekintve, hogy az anyai és magzati morbiditás, illetve mortalitás nagy részéért a PE tehető felelőssé, napjaink szülészetének egyik legnagyobb kihívását jelenti, még a fejlett országokban is. Alapvető tünetei a hipertónia és a proteinuria, melyek az esetek többségében a terhesség harmadik trimeszterében jelennek meg, és a szü-

lést követően pár héten belül visszafejlődnek. A TIM-3-molekula (T cell immunoglobulin domain and mucin domain 3) jellemzően a már differenciált és elkötelezett proinflammatoricus, Th1-polarizált lymphocyták felszínén expresszálódik, mint receptorfehérje. A TIM-3-receptor ligandja a lektinek családjába tartozó galectin-9 (Gal-9) molekula. A Gal-9/TIM-3 kapcsolódás a lymphocytákban a gyulladásos válasz gátlásához vezet, és perifériás toleranciát indukál. Vizsgálataink célja annak tisztázása, hogy az említett molekuláknak van-e szerepük a praeclampsia patogenezisében.

Anyagok és módszerek. Korai kezdetű (early onset) praeclampsias (n = 27), illetve egészséges terhes nők (36 hetes, n = 26) perifériás vérből izolált lymphocytaszubpopulációk TIM-3- és galectin-9-expresszióját vizsgáltuk, és meghatároztuk a CD8+ T- és NK-sejtek citotoxikus aktivitását. A lymphocytákat fluorokrómmal konjugált antitestekkel jelöltük és áramlási citometriás analízist végeztünk.

Eredmények. Kimutattuk, hogy a praeclampsias betegek CD8+ T-, NK- és NKdim-sejtjei szignifikánsan csökkent mértékben expresszálják a TIM-3-molekulát egészséges terhesekhez viszonyítva. A galectin-9-molekula expressziójában szignifikáns emelkedést tapasztaltunk az NK-, CD8+ T-sejtek esetében a kontroll csoporthoz képest. Az NK- és CD8+ T-sejtek citotoxicitását vizsgálva megállapíthatjuk, hogy csak a TIM-3-pozitív NK- és CD8+ T-sejtek mutatnak fokozott aktivitást PE-ben az egészséges terhes csoporthoz képest.

Következtetés. Eredményeink alapján feltételezhető a Gal-9/TIM-3 útvonal jelentősége a terhességi immunregulációban, illetve a megváltozott TIM-3- és galectin-9-expresszió szerepet játszhat az immunválaszok Th1-es irányának eltolásában praeclampsia során. További vizsgálatokat igényel a receptor-ligand interakció funkcionális következményeinek pontosabb tisztázása, illetve a molekulákat szabályozó útvonalak felderítése. Bizonyított, hogy a Gal-9/TIM-3 útvonal fontos eleme az immuntolerancia kialakulásának, ezért aktiválása lehetséges terápiás célpont praeclampsia során.



INFLIXIMAB VÁLASZKÉSZSÉG PREDIKTÁLÁSA PERIFÉRIÁS VÉR GÉNEXPRESSZIÓS ELEMZÉSÉVEL RHEUMATOID ARTHRITISBEN ÉS CROHN-BETEGSÉGBEN

MESKÓ BERTALAN¹, PÓLISKA SZILÁRD¹, VÁNCSA ANDREA², SZEKANECZ ZOLTÁN², PALATKA KÁROLY³, HOLLÓ ZSOLT⁴, ZAHUCZKY GÁBOR⁵, PODANI JÁNOS⁶, HORVÁTH ATTILA⁷, STEINER LÁSZLÓ⁷, NAGY LÁSZLÓ¹

¹Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Belgyógyászati Intézet, Reumatológiai Tanszék, Debrecen

³Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, II. Sz. Belgyógyászat, Debrecen

⁴EGIS Gyógyszergyár Nyrt., Budapest

⁵UD Genomed Kft.

⁶Biológiai Intézet, ELTE, Budapest

⁷UD Genomed Kft.

A TNF-alfát célzó biológiai terápiák térnyerése a rheumatoid arthritis és Crohn-betegség kezelésében nyilvánvaló volt az elmúlt években, viszont a terápiák sikeressége eltérő, áruk viszont magas. Mivel ezen betegségek esetén a patogenetikai háttér hasonló, várhatóan ugyanarra a biológiai terápiára mutatott válaszkészség esetén is hasonló genetikai jegyek fedezhetők fel, ilyen összehasonlítás eddig viszont nem történt.

Perifériás vér mononukleáris sejtjeinek génexpressziós mintázatait elemeztük matematikai módszerekkel is annak érdekében, hogy olyan génpaneleket azonosítsunk, amelyek egy adott betegpopulációban elválasztják a válaszadó beteget a nem válaszadótól a kezelés megkezdése előtt, és ezen elválasztó erejüket egy független betegcsoporton is megtartják.

Bebizonyítottuk, hogy 1. a perifériás vér génexpressziós elemzése alkalmas ennek felderítésére és az eredmények validálására független mintaszettben; 2. a két betegségben talált génpanelek semmilyen átfedést nem mutatnak; illetve 3. több mint 5000 olyan génpanel azonosítható betegségenként, amelyek teljes elválást mutatnak.

GYÓGYSZERSZÁLLÍTÓK ÁLTAL KIVÁLTOTT KOMPLEMENT-AKTIVÁLÓDÁS MÉRÉSE HEMOLÍZISEN ALAPULÓ TESZTTEL

MÉSZÁROS TAMÁS¹, WEISZHÁR ZSÓKA², HÉRINCZ ZOLTÁN¹, ROSIVALL LÁSZLÓ³, SZEBENI JÁNOS¹

¹Semmelweis Egyetem, Nanomedicina Kutatási és Oktatási Központ Budapest

²SeroScience Kft., Budapest

³Semmelweis Egyetem, Kórélettani Intézet, Budapest

Bevezetés. Az utóbbi években egyre inkább terjed a nanogyógyszerek bevezetése a klinikumba, melyek között legismertebbek a liposzomális és micelláris rákellenes gyógyszerek.

rek. A bennük lévő, vírus nagyságú és alakú részecskéket az immunrendszer idegennek ismer fel, és támadást intéz a komplementrendszer aktiválásán keresztül. A reakció, melyet komplementaktivációs pszeudoallergiának (CARPA) nevezünk, esetenként súlyos vagy halálos kimenetelű, ezért laboratóriumi előrejelzése, ill. megelőzése fontos kutatási cél. In vitro komplementmérések ugyan alkalmasak a nanogyógyszerek in vivo reaktogenitásának előrejelzésére, a legismertebb módszer azonban, amelyet C-aktiválás mérésre lehet alkalmazni (ELISA), jelentős szórással mér, és igen költséges. Ennek alternatívája lehet egy hemolízisen alapuló egyszerű és olcsó teszt, ami képes kimutatni a nanogyógyszer által okozott komplementváltozásokat.

Módszerek. Az adaptált hemolitikus esszé a szenzitizált birka-vvs-eket (B-vvs) alkalmazó CH50 teszten alapul, amelyben a vvs-ek hemolízise inverz módon korrelál a gyógyszer által okozott komplementaktiválással. A teszt során a B-vvs-t antitesttel szenzitizáljuk, amely mediálja a hozzáadott szérum komplementtartalom-függő hemolitikus aktivitását. A szérum előzetes inkubálása a vizsgált gyógyszerrel komplementfogyáshoz vezet, ennek mértékét adja meg a B-vvs-ből felszabaduló és könnyen mérhető szabad hemoglobin mennyisége.

Eredmények. Kísérleteinkben számos liposzóma, micelláris gyógyszerívő és egyéb nanogyógyszer komplementaktiváló képességét mértük a B-vvt-teszttel emberi és állati szérumokban, amely mérések a gyógyszerek relatív reaktogenitásának becslése mellett a különböző állatfajok (többek között patkány, kutya, malac, egér) komplementérzékenységét is megmutatták.

Következtetések. A bemutatott B-vvt-assay alkalmas a nanogyógyszerek komplementaktiváló és így CARPA-kiváltó képességének kvantitatív jellemzésére. A kísérleti rendszer egyszerűsége és olcsósága lehetővé teszi rutin alkalmazását kórházi laboratóriumokban is. Az eljárás egyben alkalmas a gyógyszerek komplementaktiváló hatásának elemzésére állati szérumban.

A TENYÉSZTETT KÜLSŐ GYÖKÉRHÜVELY KERATINOCYTA MODELL ALKALMAZHATÓSÁGA ATÓPIÁS DERMATITISBEN

MÓCSAI GÁBOR¹, LISZTES ERIKA², NAGY GEORGINA, BÍRÓ TAMÁS², SZEGEDI ANDREA¹

¹Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Bőrgyógyászati Klinika, Debrecen

²Debreceni Egyetem – MTA „Lendület” Sejtélettani Kutatócsoport

Bevezetés. Az atópiás dermatitis (AD) krónikus gyulladásos bőrbetegség, amelyet egyrészt a veleszületett immunrendszer alulműködése, másrészt az adaptív immunrendszer diszregulációja jellemez. A betegség kialakulásában fontos szerepet játszik a fizikokémiai bőrbarrier károsodása is, amelyben

kiemelkedő jelentőségű a filaggrin (FLG) fehérje genetikai és szerzett hiánya. A keratinocyták szerepének vizsgálatához eddig főként biopsziás mintákat alkalmaztak, amelyek korlátozott hozzáférhetőségük és az izolálható sejtek száma miatt nem elegendőek a korszerű kutatásokhoz. Az utóbbi években azonban kidolgoztuk a külső gyökérhüvely keratinocyták (ORSK) tenyésztését; a módszer nagy előnye, hogy az ehhez szükséges minták fájdalommentesen izolálhatók a betegek és kontroll személyek hajszálaiból, szemöldökéből és szakállából is. A minták tripszines emésztése után az izolált keratinocyták fibroblasttápláló rétegen tenyészthetők, az így nyert sejtek pedig felhasználhatók mind immuncitokémiai, mind egyéb molekuláris biológiai vizsgálatokra (qPCR, ELISA, Western-blot) is.

Módszerek. Kísérleteinkben egészséges kontrollokból és AD-s betegekből nyert ORSK sejteket tenyésztettünk, majd qPCR segítségével vizsgáltuk a keratinocyták differenciációs profilját, valamint egyes AD-re jellemző citokinek, kemokinek, antimikrobiális peptidek és Toll-like receptorok expressziójának változását. Az AD-s betegekből izolált sejtek az egészséges kontrollokhoz hasonló ütemben fejlődtek, az FLG genotípustól függetlenül.

Eredmények. Eddigi eredményeink arra utalnak, hogy az AD-s betegekből származó keratinocyták mind a differenciációs és proliferációs fehérjék tekintetében, mind a gyulladásos citokinek (TSLP, IL-1) tekintetében eltérő mRNS-expressziós szinteket mutatnak a kontrollokhoz képest.

Következtetések. Ezek alapján elmondható, hogy az ORSK sejtek tenyésztése megfelelő alternatívája lehet a biopsziás mintáknak mind keratinocytá, mind keratinocytá-immunsejt kokultúrák vizsgálatában is.

EMELKEDETT IL-17-SZINTEK KAPCSOLATA AZ ÖSZTROGÉN-SZINTEKKEL ÉS SZEREPÜK A POSZTMENOPAUZÁLIS CSONTVESZTÉSBEN

MOLNÁR ILDIKÓ¹, BOHATY ILONA², SOMOGYINÉ VÁRI ÉVA¹

¹EndoMed, Debrecen

²Debreceni Regionális Vérellátó Központ, Debrecen

A posztmenopauzális osteoporosist a csontállomány csökkenése és szerkezetének károsodása jellemzi. Elsősorban a lumbalis gerinc érintett. Ösztrogénhiányban – így posztmenopauzában is – felerősödnek a gyulladásos kórfolyamatok. Az IL-17, mint proinflammatoricus citokin stimulálja az IL-6 és TNF α citokinek gyulladásos reakcióit.

Pre- (n = 22) és posztmenopauzában (n = 72) lévő nőknél vizsgáltuk a szérum IL-17 citokinszintek kapcsolatát az ösztrogénszintekkel és a csontvesztésre jellemző csontdenzitási (BMD) értékek alakulásával. Az ösztradiol szilárd fázisú kemilumineszcens (Immulate 2000) és az IL-17-szintek mérése enzyme-linked immunosorbent (ELISA, PeproTech) módsze-

rekkel történt. A csontdenzitási méréseket Hologic Discovery Wi, DEXA (dual energy X-ray absorptiometry) készülékkel végeztük: lumbalis, csípőtájék és femurnyak régiókban.

Az IL-17-szintek az ösztrogénhiányos csoportban ($74,21 \pm 4,44$ pmol/l, $n = 78$) jelentősen emelkedtek, szemben a normál ösztrogénszinteket ($239,44 \pm 226,17$ pmol/l, $n = 16$) mutató csoporttal ($3,43 \pm 0,56$ ng/ml vs. $3,01 \pm 0,38$ ng/ml, $P = 3,04$ ng/ml = premenopauzális átlag + 2 SD) alacsonyabb T-score vagy csontdenzitási értékeket mutattak az IL-17-negatívakhoz képest (T-score $-1,2 \pm 1,1$ vs. $-0,3 \pm 1, P$).

Megállapíthatjuk, hogy a magas IL-17 citokinszintek előfordulása kapcsolatot mutat az ösztrogénhiánnyal és a csökkenő csontdenzitási értékekkel. Az IL-17-szintek emelkedése hozzájárul a posztmenopauzális csontvesztéshez, különösen a csípőtájék-femurnyak régiókban.

A SLAP ADAPTOR FEHÉRJE SZABÁLYOZZA A CD3 ζ TNF ÁLTAL INDUKÁLT PROTEASZOMÁLIS LEBONTÁSÁT

MOLNÁR-ÉRSEK BARBARA¹, MOLNÁR VIKTOR¹, BALOGH ANDREA²,
MATKÓ JÁNOS², BUZÁS EDIT¹, FALUS ANDRÁS¹, NAGY GYÖRGY¹

¹Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

²Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Immunológiai Tanszék, Budapest

Bevezetés. A tumornekrózis faktor- α (TNF) központi szerepet játszik a rheumatoid arthritis (RA) patomechanizmusában, a TNF-blokkolás napjainkban az egyik leghatékonyabb terápiás lehetőség RA-ban. A CD3 ζ a TCR-komplex egyik jelátvivő lánc, expressziójának csökkenését többek között daganatokban, RA-ban és szisztémás lupus erythematosusban (SLE) is leírták. A CD3 ζ internalizációjának és lebontásának egyik fő szabályozója az src adaptor fehérje (SLAP), szerepe a T-lymphocyták szelekciós mechanizmusában is ismert. SLAP-KO egérben a zymosanindukált arthritis enyhébb lefolyású. A génexpresszió szabályozásának újonnan felismert szereplői a mikroRNS-ek, a miR-155 központi szerepe ismert az immunsejtek fejlődésében és működésében.

Módszerek. A CD3-láncok és a SLAP expresszióját Western-blottal vizsgáltuk humán T-lymphocytákban. SLAP csendesítéséhez Jurkat-sejteket siRNS-ekkel transzfektáltuk. Az mRNS-szintű méréseinket valós idejű (RT) PCR-rel végeztük. A SLAP-CD3 ζ kolokalizációját és lizoszomális bomlását konfokális mikroszkópiával tanulmányoztuk. A sejtfelszíni fehérjék mennyiségét és a Ca²⁺-szint intracelluláris változását áramlási citometriával mértük. Az IL-2-szintet ELISA-módszerrel mértük.

Eredmények. Eredményeink szerint a TNF dóziszfüggően ($p < 0,05$), szelektíven és reverzibilisen csökkenti a CD3 ζ kifejeződését humán T-lymphocytákban, ezzel egyidőben a ζ -

láncok fokozott internalizációját figyeltük meg, ami aktiválhatóságuk kimutatható csökkenéséhez vezet. A TNF által indukált ζ -lánc-lebontás proteaszóma-gátlószerezrel gátlható, ugyanakkor lizoszómainhibitor nem befolyásolja a CD3 ζ lebomlását, továbbá a TNF nem serkenti a CD3 ζ -láncok lizoszómában történő megjelenését. A TNF elősegíti SLAP expressziójának növekedését ($p < 0,05$), valamint CD3 ζ -val történő kolokalizációját ($p < 0,01$). A SLAP csendesítésével a TNF következtében kialakuló ζ -lánc-csökkenés kivédhető. RA-ban szenvedő betegek T-lymphocytáiban kimutattuk a SLAP szignifikánsan emelkedett szintjét ($p < 0,05$), amelynek expressziója a terápia függvényében változik TNF jelenlétében. A miR-155, amelynek valószínűsített célpontjai között előkelő helyen szerepel a SLAP, expressziójának TNF jelenlétében történő csökkenését figyeltük meg.

Következtetések. A TNF a SLAP fehérjén keresztül szabályozza a CD3 ζ mennyiségét, annak proteaszomális degradációján keresztül. A SLAP expressziója emelkedett RA-ban szenvedő betegek CD4⁺ lymphocytáiban, ami felveti a mechanizmusnak a betegség patomechanizmusában betöltött szerepét is.

A CHLAMYDIA MURIDARUM PLAZMID GÉNJEINEK KIFEJEZŐDÉSE ÉS IMMUNOGENITÁSA KÜLÖNBÖZŐ EGÉRTÖRZSEKBE

MOSOLYGÓ TÍMEA, FALUDI ILDIKÓ, BALOGH EMESE, KARAI ADRIENN,
KERÉKES FANNI, ENDRÉSZ VALÉRIA, BURIÁN KATALIN

Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

Bevezetés. Chlamydia trachomatis okozta fertőzés az egyik leggyakoribb szexuálisan átvihető megbetegedés, amely gyakran krónikus kismencedei gyulladással jár együtt. A C. trachomatis és a kizárólag egérpatogén Chlamydia muridarum hordoz egy 7,5 kb nagyságú plazmidot, amely 7 fehérjét kódol. Ezen fehérjék szerepe a krónikus fertőzésekben még nem ismert. Kísérleteink során célunk volt leírni a C. muridarum plazmidja (pMoPn) által meghatározott gének transzkripció mintázatát a fertőzés során, és megvizsgálni a plazmidon kódolt fehérjékre kialakult immunválaszt BALB/c és C57BL/6 egértörzsekben.

Módszerek. BALB/c és C57BL/6 egereket intranasálisan fertőztünk C. muridarummal, majd különböző időpontokban feláldoztuk őket. A tüdőkből visszatenyészthető Chlamydia mennyiségét immunfluoreszcens módszerrel határoztuk meg. A pMoPn gének expressziójának meghatározására a tüdőből teljes RNS-t vontunk ki, majd reverz transzkripciót követően qPCR-t végeztünk specifikus primerek használva. Rekombináns eljárással előállított plazmid fehérjékre az egerekben kialakult humorális immunválaszt Western-blottal, míg a celluláris választ lymphocytaproliferációs teszttel határoztuk meg.

Eredmények. Infektív *C. muridarum*ot a fertőzést követő 1. naptól a 28. napig tudtunk visszatenyésztetni a fertőzött BALB/c egerek tüdejéből, C57BL/6 egerek tüdejéből a fertőzést követő 28. napon már nem tudtunk élő *Chlamydia*t kimutatni. A pMoPn gén kifejeződésének mintázata eltérő volt a 2 egértörzsben. BALB/c egerek esetében emelkedett pMoPn génkifejeződést mértünk a 7. napon, 5 gén esetében a kifejeződésük fokozódott a 14. napig. Két gén, a TCA04 és TCA05 expressziója konstans maradt a fertőzés során. Ezzel szemben C57BL/6 egerek esetében a pMoPn gén kifejeződésének emelkedése a fertőzést követő 14. napra tehető, és az expressziónövekedés mértéke jóval kifejezettebb volt. A plazmidfehérjékre specifikus immunválasz is eltérőnek bizonyult a két egértörzsben. BALB/c egerek esetében nem alakult ki specifikus humorális és celluláris immunválasz a plazmidfehérjékkel szemben, még háromszori *C. muridarum*mal való fertőzést követően sem. A TCA04 által kódolt pGP3 fehérjére a C57BL/6 egerek specifikus ellenanyag-termeléssel reagáltak egyszeri *C. muridarum*mal való fertőzést követően. A TCA05 által kódolt pGP4 fehérjére immunválasz csak háromszori *C. muridarum*mal való fertőzés hatására alakult ki.

Következtetések. Kísérleteink alapján a plazmid által kódolt fehérjéknek szerepe lehet a *Chlamydia* indukálta gyulladásos immunválasz patomechanizmusában, és a kialakult immunválasz függ a gazda genetikai hátterétől.

Pályázati támogatás: TÁMOP-4.2.2/B; OTKA PD 100442

SZIGNÁLÚTVONALAK JELENTŐSÉGE AZ IMMUNOLÓGIÁBAN ÉS A GYULLADÁSBAN

NÉMETH TAMÁS, JAKUS ZOLTÁN, MÓCSAI ATTILA

Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest

Az immunrendszer általános működésének alapköve a felismerés, amely bonyolult többlépcsős mechanizmuson keresztül szabályozza az immunsejtek kimeneti választát, leggyakrabban a kiváltó ok megszüntetését eredményezve. A felismerés zavarai súlyos fertőzésekhez, illetve krónikus autoimmun kórképekhez vezethetnek. Ezen eltérések kontrolljához fontos szempont a felismerés és a válaszreakció között elhelyezkedő eseménysor ismerete, mely terápiás célpontok azonosítását teszi lehetővé. A magas energiaszintű molekulák, így az ATP foszfátcsoportjának transzferét mediálni képes enzimek, a kinázok számos immunológiai folyamatban fontos szereplők. A kinázok részben elterjedtségük révén ideális terápiás támadáspontoknak tekinthetők. Emellett aktivitásuk viszonylag könnyen gátlható, valamint inhibitoraik toxicitása viszonylag alacsony. Ezekben túlmenően a kinázgátlók kis molekulájú inhibitorok, ez olcsó előállítás és orális adagolhatóságot jelent. Kinázgátlókat már a klinikai gyakorlatban is használnak, az egyik sikertörténet a krónikus mieloid leuké-

mia gyógyításában használt imatinib. A tirozin aminosavon foszforiláló tirozinkinázok az immunológiai jelátvitel nélkülözhetetlen elemei, jelentős terápiás potenciállal. A lehetséges terápiás támadáspontok azonosításában az egyik lehetőség a farmakológiai megközelítés, amely metodika egyik legnagyobb hátránya a sokszor nem egyértelmű targetspecifitás. Ezt képes pótolni a transzgénikus megközelítés. A gátlható intracelluláris tirozinkinázok közül autoimmun kórképekben a Syk az egyik legígéretesebb kandidáns. A Syk több immunreceptor, így mind a B-sejt receptor, mind az Fc-receptorok jelátvitelének esszenciális eleme immunsejtekben. Laborunk kísérletei alapján elmondható, hogy a Syk nélkülözhetetlen résztvevője az autoantitest-mediált kísérleti autoimmun arthritisnek: genetikai hiányában nem alakul ki az ízületi gyulladás és a következményes ízületi funkciózavar. Ezzel összhangban a hatását részben a molekula gátlásán kifejtő inhibitor, a fostamatinib humán rheumatoid arthritisben hatékonyan bizonyult.

Összefoglalásként elmondható, hogy a tirozinkináz-gátlók hematológiai alkalmazása mellett határozottan felmerül egyes kis molekulájú szerek terápiás felhasználása egyes humán autoimmun betegségekben, így a viszonylag megoldatlan terápiával rendelkező humán autoimmun betegségekben, köztük humán autoimmun arthritisekben. A potenciális célpontok azonosításában a farmakológiai mellett a genetikai megközelítés is jelentős.

GM1-GANGLIOZID-SZABÁLYZOTT A TUMORSEJT ÁLTAL KÖZVETÍTETT GAL-1-INDUKÁLT LCK-SZEGREGÁCIÓ ÉS APOPTÓZIS T-SEJTEK BEN

NOVÁK JULIANNA¹, DEÁK MAGDOLNA², KRISTON-PÁL ÉVA¹, KOVÁCS LÁSZLÓ², MONOSTORI ÉVA¹, FAJKA-BOJA ROBERTA¹

¹Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetika Intézet, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Reumatológiai Klinika, Szeged

Bevezetés. Szignálmolekula kötődésekor a membránban térben és időben jól orientált dinamikus folyamatok zajlanak: szignalizációs komplexek, raftok alakulnak ki modulok bevitelével, illetve kiesésével. Az irodalomban létezik egy koncepció, miszerint az elemek mozgásában nagy szerepe van belülről az aktinhálózatnak, extracellulárisan pedig a raftok egyik fő komponenséhez, a GM1 gangliozidhoz kötő galektin-1-nek (Gal-1).

Munkánkban vizsgáltuk, hogy a Gal-1 által elindított T-sejt apoptotikus útvonalban eddig azonosított proximális elemek (fókuszálva az Lck tirozinkinázra és a GM1 gangliozidra) hogyan illeszthetők a fent említett koncepcióba, illetve hogyan befolyásolják az apoptotikus végkimenetelt.

Módszerek. Az Lck, a Y505-ön foszforilált Lck (Lck inaktív forma), illetve a tirozinon foszforilált fehérjék lokalizációját

immuncitokémiai festéssel, konfokális mikroszkóp képfelvétellel analizáltuk Jurkat T-sejtvonalon, és humán aktivált T-sejteken. A különböző mennyiségű sejtfelszíni GM1 gangliozidot hordozó sejteket koleratoxin-biotin-streptavidin-kapcsolt mágneses gyöngyökkel válogattuk szét. A raftok jelenlétét eldöntő kísérletekben β -ciklodextrint alkalmaztunk, az apoptóziszteszteket pedig egy általunk kifejlesztett tumor-sejt-T-sejt kokultúrás rendszerben végeztük, ahol tumorsejt közvetíti a Gal-1-et.

Eredmények és következtetés. A tumorsejt felszínén lévő Gal-1 az Lck tirozinkináz kizáródását indukálja a sejt-sejt kontaktusból, vagyis a szinapszisban kialakuló mikrodomén struktúrából (Lck szegregáció). Az inaktív formában lévő Lck azonos lokalizációt mutat az összes Lck-val, az időkinetikai elemzések pedig azt tükrözik, hogy az Lck a sejt-sejt kapcsolódást követő 30–60 percben inaktívulódik és kizáródik a sejtszinapsziszból. Ezzel összhangban, a kezdeti intervallumban tirozinon foszforilált fehérjék a sejt-sejt kapcsolatban mutatnak feldúsulást, igazolva az általunk korábban közölt eredményeket, melyben korai tirozinfoszforilációs eseményekről számoltunk be. A GM1 gangliozid szerepét az Lck irányított membrán mozgásában a következő módon igazoltuk: Jurkat-, illetve humán aktivált T-sejteket GM1 sejtfelszíni mennyiség alapján alacsony (aGM1), illetve magas GM1 (mGM1) populációkra válogattuk szét. Az aGM1 Jurkat- és aT-sejteken az Lck-szegregáció és az apoptózis alacsonyabb mértékű volt, mint az mGM1 T-sejteken. Ezek az eredmények mutatják, hogy a Gal-1-kötő GM1 szerepet játszik a lektin által indukált korai sejtmembránban történő dinamikus molekulamozgásokban és ennek következményeként a Gal-1 által kiváltott T-sejt-apoptózisban.

A HERPES SIMPLEX-1 (HSV-1) ÉS -2 (HSV-2) AUTOFÁGIÁT KIVÁLTÓ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA SIRC CORNEALIS SEJTVONALON

OROSZ LÁSZLÓ¹, PÁSZTOR KATA¹, PETROVSKI GORAN², FACSKÓ ANDREA³, MEGYERI KLÁRA^{1,4}

¹Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet, Szeged

²Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar, Szemklinika, Debrecen

³Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Szemészeti Klinika, Szeged

⁴Cornell University, College of Veterinary Medicine, Department of Microbiology and Immunology, Ithaca, NY, USA

Bevezetés. Az autofágia evolúciósan konzervált intracelluláris degradációs folyamat, amely lehetővé teszi a tápanyagok újrahasznosítását és a sérült vagy veszélyes citoplazmatikus orgánellumok, molekulák, illetve patogén ágensek autofago-

szómák általi eltávolítását. Ezáltal az autofágia a természetes és az adaptív immunitásban is jelentős szerepet játszik. A HSV-1- és -2-infekció következményeként leírták az autofagoszómák képződését egyes sejttípusokban. Azonban a HSV-k által okozott szemfertőzések esetében az autofágia kialakulását és ezen betegségek patomechanizmusában betöltött szerepét eddig még nem vizsgálták.

Módszerek. SIRC nyúl cornealis sejtvonal sejtjeit fertőztük HSV-1 és HSV-2 vírustörzsekkel különböző multiplicitásokkal és eltérő ideig. A bekövetkező autofagoszóma-képződést transzmissziós elektronmikroszkópiával és ATG-5-specifikus immunfluoreszcens festéssel detektáltuk. Western-blot-analízis segítségével határoztuk meg az Atg-5 expresszióját, valamint az LC-3-B-I/LC-3-B-II arányt. A sejteket különböző, az autofágiát gátló szerekkel (klorokvinnal és bafilomycinnel) is kezeltük, és így mértük az autofágiás fluxust.

Eredmények. Az elektronmikroszkópos felvételeken mind a virionokat, mind pedig a kettős falú autofagoszómákat észleltük. A HSV-1 és a HSV-2 által fertőzött sejtekben detektáltuk az ATG-5-pozitív autofagoszómák jelenlétét immunfluoreszcens festés segítségével. A Western-blot-analízis szintén igazolta az ATG-5 szintjének emelkedését a fertőzött sejtekben a kontrollhoz képest. Az LC-3-B-I/LC-3-B-II arány csökkenését is észleltük mind a HSV-1-gyel, mind pedig a HSV-2-vel fertőzött SIRC sejtekben Western-blot-analízis segítségével. A klorokvin és a bafilomycin gátlószerek hatására az LC-3-B-II szintje jelentősen emelkedett.

Következtetések. Kísérleteink igazolták, hogy a HSV-1 és a HSV-2 hatékonyan szaporodik a SIRC cornealis sejtvonalon. Adataink alapján a HSV-k replikációjuk során autofagoszóma-képződést, illetve ATG-5- és LC-3-B-II-szint-emelkedést váltottak ki. A gátlószerek kezeléseket bizonyították az autofágiás fluxus meglétét is. Eredményeink tehát arra engednek következtetni, hogy mind a HSV-1, mind a HSV-2 autofágiát indukál a SIRC cornealis sejtvonalon. Ezek az adatok hozzájárulhatnak a HSV-k által okozott szemészeti kórképek immunpatogenezisének jobb megértéséhez.

A FOTOFERÉZISTERÁPIA HATÁSA AZ IMMUNREGULÁCIÓRA ÉS LYMPHOCYTAAKTIVÁCIÓRA SZISZTÉMÁS SCLEROSISBAN

PAPP GÁBOR¹, BARÁTH SÁNDOR¹, GYIMESI EDIT¹, SZEGEDI ANDREA², SZODORAY PÉTER³, ZEHER MARGIT¹

¹Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék, Debrecen

²Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Bőrgyógyászati Klinika, Debrecen

³University of Oslo, Institute of Immunology, Oslo

Bevezetés. Korábbi vizsgálataink alátámasztották az extracorporalis fotoferezis- (ECP-) terápia klinikai hatékonyságát difúz cutan szisztémás sclerosisban (dcSSc), továbbá kimutat-

tuk a kezelések szerepét a proinflammatoricus és profibroticus folyamatok csökkentésében, és a betegség progressziójának gátlásában. Jelen tanulmányunkban kutatásainkat folytatva, nagyobb beteganyagon vizsgáltuk a terápia hatásait a perifériás lymphocytaktivációra és sejthalálra betegkben, különös tekintettel e folyamatok és az immunregulációs profilban megfigyelt változások kapcsolatára.

Módszerek. Vizsgálatainkba 19 dcSSc-ben szenvedő beteget vontunk be, akik egyénenként összesen 12 ECP-kezelésben részesültek tanulmányunk időtartama alatt. A vérminták levétele a terápiás ciklusok előtti napokon történt, az eljárás korai biológiai hatásainak kiküszöbölésének céljából. Kontrollként 16 egészséges személy vérmintája szolgált. Kutatásaink során áramlási citometriával meghatároztuk a perifériás T- és B-sejtek CD95-, annexin-V-, CD69- és HLA-DR-expresszióját, illetve a perifériás CD4+CD25+ Treg-sejtek értékeit a betegekben. A CD4+CD25+ Treg-sejtek szuppresszor működését in vitro funkcionális teszttel vizsgáltuk.

Eredmények. Az ECP-terápia megkezdése előtt a betegekben a CD95+ T-sejtek száma és aránya szignifikánsan magasabbnak adódott a kontrollhoz képest, azonban a kezelések hatására az értékek fokozatos csökkenést mutattak. A T- és B-sejtek annexin V-expressziója nem változott a terápia során. Egyértelmű negatív korrelációt tapasztaltunk a CD95+ T-sejtek és a CD4+CD25+ Treg-sejtek százalékos arányának változása között. Bár a kezelések hatására sem a korai (CD69+), sem a késői (HLA-DR+) aktivált T-lymphocyták száma nem változott szignifikánsan, a kezelés befejeztével erős negatív korreláció alakult ki köztük és a CD4+CD25+ Treg-sejtek szuppresszor aktivitása között.

Következtetések. Eredményeink alapján a T-sejtek kezdeti fokozott CD95-expressziója dcSSc-ben részét képezheti a szervezet által az autoimmun folyamatokra adott fiziológiás válaszreakciónak. Az autoreaktív folyamatok mérséklődésével a CD95+ T-sejtek értékei szintén csökkennek, amelynek hátterében az ECP-terápia által felerősödött immunregulációs működések állhatnak.

PARLAGFŰ SZUBPOLLEN PARTIKULÁK NAD(P)H-OXIDÁZ ENZIMEI ÁLTAL TERMELT REAKTÍV OXIGÉNGYÖKÖK HATÁSAINAK VIZSGÁLATA HUMÁN DENDRITIKUS SEJTEKEN

PÁZMÁNDI KITTI¹, BRAHMA V. KUMAR¹, SZABÓ KRISZTINA¹, BOLDOGH ISTVÁN², SZŐÖR ÁRPÁD³, VERÉB GYÖRGY³, RAJNAVÖLGYI ÉVA¹, BÁCSI ATTILA¹

¹Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Immunológiai Intézet, Debrecen

²University of Texas Medical Branch, Department of Microbiology and Immunology, Galveston, USA

³Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

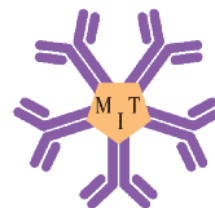
Bevezetés. Korábbi vizsgálatok eredményei alapján elmondható, hogy a pollenszemekből hidratáció során kiszabaduló

szubpollen partikulák (SPP) megőrzik az intakt pollenszemekre jellemző allergén komponenseket, illetve reaktív oxigéngyökök termelésére képes NAD(P)H-oxidáz enzimeket, ezáltal fontos szerepet játszanak az allergiás tünetek kiváltásában. A belégzett SPP-k méretüknél fogva (0,5–4,5 µm) képesek az alsóbb légutakba is lejutni, ahol közvetlen kapcsolatba kerülhetnek a dendritikus sejtekkel.

Módszerek. Munkánk során a leggyakoribb aeroallergénnek számító parlagfű intakt pollenszemeinek hidratációjával nyert SPP-izolátumokkal kezeltünk humán monocytaredetű dendritikus sejteket (moDC), majd vizsgáltuk a sejtek fenotípusos és funkcionális válaszát.

Eredmények. Kísérleteink során azt találtuk, hogy a kezelés hatására az moDC-kben megemelkedett az intracelluláris reaktív oxigéngyök koncentráció, fokozódott a sejtfelszíni fehérjék (CD40, CD80, CD86, HLA-DQ) expressziója, nőtt a sejtek citokin- (IL-6, TNF-α, IL-10), illetve kemokin- (IL-8) szekréciója. Konfokális mikroszkóp segítségével kimutattuk az SPP-k intracelluláris lokalizációját, amely az moDC-k nagymértékű SPP fagocitózisára utal. Megállapítottuk továbbá, hogy az SPP-vel kezelt moDC-k fokozzák a naív T-sejtek proliferációját. Allogén CD3+ pan-T-sejtekkel történő kokultivációt követően elmondható, hogy az SPP-vel kezelt moDC-k aktiválják az IFN-γ-, illetve IL-17-szekretáló T-sejteket, függetlenül a donor atópiás státusától. Ugyanakkor az IL-4 citokint termelő T-sejtek aktivációját kizárólag parlagfűre allergiás egyének mintáiban tudtuk detektálni. Ezen kísérleteinket az SPP NAD(P)H-oxidázának szubsztátja, azaz exogén NADPH jelenlétében megismételve nagyobb mértékű moDC-aktivációt tapasztaltunk. Ezzel szemben az SPP-k hőinaktiválása, illetve specifikus NAD(P)H-oxidáz-inhibitor (diphenyleneiodinium) jelenléte gátolta az moDC-k fenotípusos, illetve funkcionális érését, amely arra enged következtetni, hogy az SPP NAD(P)H-oxidáza által termelt reaktív oxigéngyököknek részben szerepe lehet a dendritikus sejtek aktivációjában.

Következtetések. Eredményeinket összegezve elmondható, hogy a belégzett parlagfű SPP-k az alsó légutakba jutva képesek a légúti dendritikus sejtek aktiválására, ezáltal meghatározó szerepük lehet a pollenindukált allergiás reakciók szenzitizációs fázisában is.



STABIL IMMUNOLÓGIAI PROFIL TÖBBSZÖRÖSEN KIÚJULÓ METASZTATIKUS MELANOMÁBAN

PÓS ZOLTÁN¹, TARA L. SPIVEY², HUI LIU³, JINGUO CHEN⁴, JOHN R. WUNDERLICH⁵, GIULIA PARISI⁶, PAUL F. ROBBINS⁵, LICIA RIVOLTINI⁷, MICHELE MAIO⁶, LOTFI CHOUCANE⁸, ENA WANG⁴, FRANCESCO M. MARINCOLA⁴

¹MTA-Semmelweis Egyetem „Lendület” Kísérletes és Transzlációs Immunomikai Kutatócsoport, Budapest

²Rush University Medical Center, Department of General Surgery, Chicago, IL, USA

³Infectious Disease and Immunogenetics Section, Department of Transfusion Medicine, Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

⁴Infectious Disease and Immunogenetics Section, Department of Transfusion Medicine, Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

⁵Surgery Branch, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

⁶Cancer Bioimmunotherapy Unit, Centro di Riferimento Oncologico, Aviano, Olaszország

⁷Unit of Immunotherapy of Human Tumors, Fondazione IRCCS, Istituto Nazionale Tumori, Milan, Olaszország

⁸Weill Cornell Medical College in Qatar, Education City, Doha, Katar

Bevezetés. Jelen program célja a daganatos mikroevolúció genomi léptékű vizsgálata volt áttétes, végstádiumú melanomás betegekben annak felmérésére, hogy milyen egyedi, egyes betegekre jellemző, és ezzel szemben milyen közös, számos betegben konzekvensen végbemenő események, változások történnek genomi szinten a betegség e nehezen vizsgálható, de orvosilag különösen releváns, terminális szakában.

Módszerek. A programban nyolc ritka, különleges melanomás páciens vizsgálunk, akik a betegség végstádiumát extrém hosszú időn át túlélve nagyszámú visszatérő (rekurrens) melanomaáttétet éltek túl, és akiknek időben egymást követő áttétes mintái így betekintést engedtek a betegség genomi fejlődésének folyamatába. A folyamatot teljes genomi analízisben, mind a DNS-szintű, kópiaszámbeli aberrációkat, mind az RNS-szintű, génexpressziós markerek viselkedését, stabilitását követve elemeztük.

Eredmények. A melanoma végstádiumában a genomi fejlődést már nem trendszerű, azaz mikroevolúciósan feltehetően adaptív, hanem sztochasztikus változások dominálják. Ettől függetlenül, még egy ilyen intenzíven változó genomi környezetben is, az egyes páciensekre egyedileg jellemző genomi aberrációk, génexpressziós torzulások továbbra is átütő erővel bírnak. Különösen érdekes, hogy az egyénileg legstabilabb daganatmarkerek között felülreprezentáltak az immunológiai értelemben központi jelentőségű cancer-testis antigének, mint a MAGE-A4, -B2, -C2, BAGE-2, az antigénprezentációban fontos molekulák, vagy a KIT protoonkogén,

amik bevett, vagy bevezetés alatt álló célzott daganatterápiák kritikus célpontjai.

Következtetések. Adataink szerint egy tetszőleges méretű betegcsoportban megfigyelt melanomás áttéteket, mint klinikai eseteket, egyértelműen elsősorban a páciens személye, és nem az egyes áttétek teszik különbözővé, amiben stabil, egyedi immunológiai profiljuknak is komoly szerepe lehet.

A CR3 ÉS CR4 ELTÉRŐ SZEREPET JÁTSZIK AZ IC3B KOMPLEMENT FRAGMENTUM MEDIÁLT FAGOCITÓZIS SORÁN

SÁNDOR NOÉMI¹, PARÉJ KATALIN², KRISTÓF KATALIN³, PAP DOMONKOS⁴, ERDEI ANNA³, BAJTAY ZSUZSA³

¹MTA-Eötvös Loránd Tudományegyetem Immunológiai Kutatócsoport, Budapest

²MTA Enzimológiai Intézet, Budapest

³ELTE Természettudományi Kar, Biológiai Intézet, Immunológiai Tanszék, Budapest

⁴Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar, I. Sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

Az opszonizált fagocitózis az immunrendszer egyik hatékony effektorfunkciója a patogének eltávolítása során, továbbá a fagocitózis fontos lépése az antigénbemutatásnak. A C3 komplementkomponens-eredetű fragmentumok a patogének felszínén lerakódva opszonikus fagocitózist indukálnak. A CR3 (CD11b/CD18) és CR4 (CD11c/CD18) komplementreceptorokról régóta ismert, hogy az iC3b-vel opszonizált antigének fagocitózist közvetítenek. Mindkét receptor a $\beta 2$ -integrinek családjába tartozik, és mivel ligandumspecifitásuk átfedő, így funkcióikat is hasonlóknak tartották. Egyre több adat utal azonban arra, hogy a CR3 és CR4 különböző feladatot is elláthat.

Munkánk során a CR3- és CR4-receptorokat egyaránt nagy mennyiségben kifejező dendritikus sejtek esetében az iC3b-vel opszonizált partikulumok felvételét tanulmányoztuk. Az iC3b-vel opszonizált gomba és baktérium fagocitózist humán monocytáeredetű dendritikus sejtek (MDC-k) esetében elemeztük. A két receptor részvételét a folyamatban receptorspecifikus ellenanyaggal történő gátlás és RNS-silencing technika alkalmazásával vizsgáltuk áramlási citofluorimetria és konfokális lézerpásztázó mikroszkópia segítségével.

Kimutattuk, hogy MDC-k esetében az iC3b kötésére mindkét receptor egyaránt képes. Adataink alapján az MDC-k mind az iC3b-vel opszonizált élesztő-, mind az iC3b-vel opszonizált baktériumpartikulumokat hatékonyan felvették. Ezt a folyamatot az anti-CD11b gátolta, de az anti-CD11c nem. Az MDC-k csökkent mértékű CD11b-expressziója az iC3b-közvetített fagocitózist gátolta, míg a CD11c géncsendesítése nem befolyásolta annak mértékét. Bizonyítottuk, hogy a CR3- és CR4-mediált fagocitózisban az Fc-receptorok és mintázatfelfismerő receptorok nem vesznek részt. A komplementreceptorok

mozgását az iC3b-mediált fagocitózis során konfokális mikroszkópiával is nyomon követtük. Funkcionális tesztekben kimutattuk, hogy az iC3b-vel történő opszonizáció elsődleges szerepe a fagocitózis elősegítése, míg az MDC-k differenciációja, gyulladásos citokintermelése és T-sejt-aktiváló képessége nem változott.

Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy az iC3b-mediált fagocitózist elsősorban a CR3 közvetíti, a CR4 csak támogatja ezt a folyamatot. Kísérleteink rávilágítanak a két receptor korábban nem jellemzett funkcionális különbségére. A folyamat részleteinek feltárása további vizsgálatokat igényel.

A B-SEJTEK ÉS A PLAZMASEJTEK IMMUNOLÓGIAI SZEREPE

SÁRMAY GABRIELLA

ELTE Immunológiai Tanszék, Budapest

A B-sejtek szerepe az immunválaszban sokrétű: nemcsak az ellenanyag-szekretáló plazmasejtek előalakjai, hanem részt vesznek az antigénbemutatásban, citokineket (limfotoxin- β , IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-10) termelnek, ektopikus nyirokszövet kialakítására képesek, és fontos szerepük van mind a humorális, mind a sejtes immunválaszt szabályozó folyamatokban. Újabban leírt csoportjuk, a regulátor B-sejtek vagy B10 sejtek, IL-10-től függő és független módon is részt vehetnek a gyulladás szabályozásában. Előadásomban a legújabb adatokat foglalom össze a B-sejtek funkciójáról.

A LYMPHOCYÁK MEMBRÁN-ÖSZTROGÉNRECEPTORA: KAPCSOLAT A GENOMIÁLIS ÉS NEM GENOMIÁLIS JELÁTVITELI ÚTVONALAK KÖZÖTT

SCHNEIDER ANDREA, SCHUSZTER KITTI, LÁSZLÓ GLÓRIA, MATKÓ JÁNOS

Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar, Immunológia Tanszék, Budapest

A nemi hormonként már jól ismert ösztrogén (17 β -ösztradiol, E2) az immunválasz kimenetelét is képes befolyásolni. A többi szteroidhoz hasonlóan transzkripció faktoraként működő magi receptorain (ER α , ER β) keresztül fejti ki hatását. Ez az ún. klasszikus vagy genomiális útvonal. Az E2 feltehetően plazmamembrán-receptoron (mER) keresztül is hathat (nem genomiális út), gyors jelátviteli események modulálása révén. A genomiális út a célsejt komplex funkcióját szabályozza, míg a nem genomiális út lehetőséget adhat a dinamikus környezeti változásokhoz való alkalmazkodáshoz és a szabályozás finomhangolásához.

Az mER vizsgálatához a membrán-impermeabilis E2-BSA(-FITC) konjugátumot használtuk. Az ER-ek lokalizációjá-

nak feltérképezéséhez konfokális mikroszkópiát, az mER dinamikájának és sejtpopulációk közötti eloszlásának feltáráshoz áramlási citofluorimetriát alkalmaztunk. E2 in vitro proliferációra kifejtett hatását H3-timidin-beépüléssel mértük. A plazmamembrán-szeparátumokat Western-blot-módszerrel vizsgáltuk.

A mER által megkötött E2-BSA-FITC gyorsan (<30 min) internalizálódik, majd a lizoszómákba kerül. Kimutattuk továbbá, hogy a plazmamembrán mER-szintje viszonylag hamar helyreáll (60 perc után teljes a receptorreciklizáció); sőt magasabb mER-szint mérhető, mint a kiindulási sejttállapotban. Ez arra enged következtetni, hogy a sejtnak van egy intracelluláris „mER készlete”, melyet a környezet E2-szintjét érzékelve felszabadít. Elképzelhető, hogy az mER által megkötött E2 a nem genomiális válaszok elindítása után az mER közvetítésével kerül a sejt belsejébe, és mint egy hordozó, átadja ligandumát a citoplazmatikus ösztrogénreceptoroknak. Erre vonatkozóan még nincsenek adataink. A genomiális és nem genomiális út közötti kapcsolatra azonban vannak bizonyítékaink. Ha a sejteket E2-BSA-val előkezeljük, azaz közvetlenül az mER-t célozzuk meg, akkor megnő a klasszikus ER GPR30 membránlokalizáltsága. Tehát az mER által közvetített jel a membránhoz „toborozza” a citoplazmatikus receptorokat. Ezt alátámasztja, hogy plazmamembrán és GPR30 jelenlétét egyaránt ki tudtuk mutatni. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a különböző lym-phocytá-sejtpopulációknak eltérő a mER-expressziós szintje, sőt a thymocytaon belüli különbségeket elnézve feltételezhetjük, hogy akár a sejtek érési folyamatában is szerepet játszik valamilyen módon. Eredményeink szerint az ösztrogén a citoplazmatikus és membrán-receptorain keresztül eltérő módon szabályozza a lymphocyták proliferációját. Az E2 jelenlétében történő aktiválás általában gátló, míg az E2-BSA jelenléte minden esetben pozitív hatású a sejtek proliferációjára. Az mER a sejtek számára tehát nagy valószínűséggel aktiváló jelet közvetít.

A GYULLADÁSGÁTLÓ FLAVONOIDOK HATÁSMECHANIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA ENDOTHELSEJTEKEN

SCHWANER ENDRE, DEBRECZENI MÁRTA LÍDIA, JANI PÉTER KÁROLY, CERVENAK LÁSZLÓ

Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Kutatólaboratórium, Budapest

Bevezetés. Az ereket belülről borító endothelsejt-hálózat a szelektív barrierfunkció ellátása mellett számos folyamat regulátora. Az endothelsejt funkciói közül a gyulladás szabályozása központi szerepet tölt be. Korábbi munkánk során leírtuk, hogy a kvercetinnek rokon flavonoidok eltérő módon befolyásolják az endothelsejtek gyulladásos citokin választát (IL-6, IL-8, MCP-1). Minthogy az egyik legfontosabb komponens

a hidroxietil-kvercetin eddig nem állt rendelkezésünkre, így célunk volt ennek a gyógyszerhatóanyag flavonoidnak az összehasonlítása a többi eddig vizsgált komponenssel, valamint annak felderítése, hogy milyen jelátviteli folyamat(ok) állhatnak a flavonoidok citokintermelésre kifejtett gátló hatásának hátterében.

Módszerek. Endothelsejtmodellként HUVEC-tenyészetet 96 lyukú sejtenyészítő lemezre szélesztettünk. Ezután a sejteket flavonoidokkal (kvercetin, rutin, hidroxietil-kvercetin, hidroxietil-rutozid, izoramnetin) kezeltük IL-1- β -ta jelenlétében vagy hiányában. A citotoxicitást mikroszkópos morfológiai pontozás, ill. Sybr-Green fluoreszcencia alapján vizsgáltuk. Az NF κ B nukleáris transzlokációját nyúl antihumán NF κ B p65 ellenanyaggal, Olympus IX-81 típusú inverz fluoreszcens mikroszkóppal elemeztük. A flavonoidok oxidációját specifikus abszorpciós spektrumuk megváltozásával detektáltuk.

Eredmények. Az általunk vizsgált flavonoidok nem mutatnak számottevő citotoxicitást még magas (50 μ M) koncentrációban sem. Ezután az IL-6, IL-8 és MCP-1 egyik közös transzkripciószregulátorát vizsgáltuk, az NF κ B-t. Önmagában egyik flavonoid sem aktiválta az NF κ B nukleáris transzlokációját, azonban a kvercetin gátolta az IL-1- β -ta indukált NF κ B-aktivációt. A cukoroldalláncot hordozó flavonoidok rezisztensek voltak a hidrogén-peroxid általi oxidációra, azonban az aglikon formák oxidálódtak. Legerősebben a kvercetin oxidálódott, de a hidroxietil-kvercetin is jó gyökfogónak bizonyult.

Következtetések. Érvédő gyógyszerként az általunk vizsgált flavonoidok közül a rutint és a hidroxietil-rutozidokat alkalmazzák. Ellentmondásnak tűnhet, hogy miért az aglikon kvercetin és hidroxietil-kvercetin jobb gyökfogó, és miért a kvercetin a legerősebb gyulladásgátló tulajdonságú. Ismert azonban, hogy a flavonoidok felszívódása során a bélfalban lehasad a cukor oldallánc, így az aglikon formák jelentik az igazi hatóanyagot. A cukor oldallánc viszont segíthet a gyógyszerek stabilizálásában a felhasználást megelőzően.

Támogatás: OTKA K100684 (CL), Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (BO/00218/10/8, CL)

A HISZTAMIN A H₂-HISZTAMINRECEPTORON (H2R) KERESZTÜL SZABÁLYOZZA A MONOCYTAEREDETŰ DENDRITIKUS SEJTEK MŰKÖDÉSÉT

SIMON TÜNDE¹, KIS-TÓTH KATALIN², JELINEK IVETT¹, LÁSZLÓ VALÉRIA¹, RAJNAVÖLGYI ÉVA², GOGOLÁK PÉTER²

¹Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

²Debreceni Egyetem Immunológiai Intézet, Debrecen

A humán monocytaeredetű dendritikus sejtek (DS) CD1a fehérje expressziója funkcionálisan eltérő altípusokat határoz

meg. A gyulladásos mediátornak számító hisztamin számos sejtben termelődik, köztük a DS-ekben is, és szerteágazó biológiai hatásait G-fehérjékhez kapcsolt receptorokon keresztül fejti ki, melyek képesek szabályozni az egyes DS altípusok működését.

In vitro kísérleteinkben összehasonlítottuk a hisztaminreceptorok expresszióját és aktivitását monocytából differenciáltatott CD1a- és CD1a+ DS-ekben, illetve a hisztamin ezen altípusok differenciációjára, aktivációjára és funkcionális sajátosságaira kifejtett hatásait vizsgáltuk.

Eredményeink alapján a hisztamin szabályozó szerepet tölt be a DS altípusok differenciálódásában, elősegítve a CD1a- sejtek fejlődését. Ezt a hatást a H2R-nak tulajdonítjuk, mivel csak ezen hisztaminreceptor specifikus inhibitora tudja visszaállítani a CD1a+ sejtek képződését. Kimutattuk továbbá, hogy a H2R magasan expresszálódik mindkét DS altípusban, míg a H1R és H4R DS altípusspecifikus kifejeződést mutat. A hisztamin a CD1a+ DS-ek differenciálódására kifejtett gátló hatásán keresztül szabályozza a DS-ek aktivációját, fokozva a CD83+CD1a- sejtek képződését, miközben a hisztamin által kiváltott CD1a+ sejtcsökkenés eredményeképpen nő az IL-6 és IL-10 citokinek szekréciója. A hisztamin a H2R-en keresztül, altípusspecifikus módon szabályozza bizonyos migrációhoz kapcsolódó gének expresszióját, mindkét altípusban fokozza a DS-ek spontán és kemokínközvetített migrációját, és szabályozza az MMP-9 és MMP-12 enzimek termelődését, melyek szintén szerepet játszanak a DS-ek vándorlásának irányításában.

Mivel a H2R magasan expresszálódik mindkét altípusban, azt feltételezzük, hogy ez a receptor számos DS funkció szabályozásában domináns szerepet tölt be. Ezzel szemben a H1R és H4R eltérő altípusspecifikus expresszióval finom reguláló szerepet tölthet be a hisztamin által kiváltott DS működésbeli változásokban.

GLIKOZIDÁZOK ÉS SZULFATÁZOK VIZSGÁLATA REUMATOLÓGIAI MEGBETEGEDÉSEKBEN

SÓDAR BARBARA, PÁSZTÓI MÁRIA, PÁLÓCZI KRISZTINA, FALUS ANDRÁS, BUZÁS EDIT

Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

Bevezetés. Munkacsoportunk korábban igazolta, hogy az exoglikozidázok a mátrix metalloproteinázokhoz hasonlóan képesek a hialinporc alapállományának jelentős károsítására, azonban ízületi kifejeződésüket a lokálisan termelődő citokinek negatívan szabályozzák.

Mivel ez utóbbi saját eredményunktől eltekintve alig található adat az irodalomban a glikozidázok kifejeződésére vonatkozóan, mostanáig még nem vizsgált exoglikozidázok

[fukozidáz (FUCA1 és 2); heparanáz (HPSE1, 2); neuraminidáz (NEU1-4); hexóaminidáz D (HexDC) és szulfatáz (SULF1, 2)] kifejeződését vizsgáltuk rheumatoid arthritises (RA) és osteoarthritis (OA) synovialis fibroblastokban és synovialis membránmintákban. Arra kerestünk választ, hogy az RA-ra jellemző, aktivált fenotípusú synovialis fibroblastok milyen mértékben járulhatnak hozzá a synovialis glikozidázok termeléséhez.

Módszerek. A primer synovialis fibroblastok és synovialis membránminták glikozidázainak génexpresszióját Fast Taq-Man Real-Time PCR segítségével határoztuk meg. A sejtlizátumok és az extracelluláris vezikulák enzimaktivitását kromogén szubsztát hozzáadásával mértük meg. A fibroblastokat IL-1 β , IL-17, TNF α , és TGF β citokinekkal kezeltük.

Eredmények. A vizsgált glikozidázok közül a synovialis fibroblastok FUCA2 és NEU1 kifejeződése bizonyult a legerőteljesebbnek. Meglepetésünkre a SULF1 és SULF2 szulfatázok kiemelkedő expressziót mutattak a sejtekben. A HexDC génről elsőként szolgáltatunk humán, illetve betegség vonatkozású adatokat. A citokinkezelések hatására a FUCA1, HPSE1, NEU1 és NEU3 gének kifejeződése TGF β hatására jelentős mértékben csökkent ($p < 0,05$). Ugyanez a kezelés a SULF1 gén esetében génexpresszió-növekedést váltott ki.

Következtetések. Korábban nem vizsgált, synoviumban kifejeződő glikozidázokról igazoltuk, hogy lokálisan termelődő citokinek negatív szabályozása alatt állnak, amely hangsúlyozza az enzimes család szabályozásának jelentőségét és feltételezhető szerepét az extracelluláris mátrix homeosztázisának fenntartásában. A proteoglikánok és glükózaminoglikánok negatív töltésének kialakításáért alapvetően felelős szulfatázok synovialis fibroblastokban tapasztalt igen erős expressziója az RA patomechanizmusában betöltött lehetséges szerepükre hívja fel a figyelmet.

A FIZIKAI AKTIVITÁS HATÁSA PATKÁNY BÉLGYULLADÁSOS MODELLBEN

STRIFLER GERDA¹, BOROS ÉVA¹, SZÁSZ ANDRÁS¹, VARGA CSABA², NAGY ISTVÁN¹

¹MTA Szegedi Biológiai Központ, Biokémia Intézet, Szeged

²SZTE Természettudományi és Informatikai Kar, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék, Szeged

A szervezetünket érő különböző káros hatásokkal szemben az immunrendszer rendszerint gyulladásos válaszreakcióval veszi fel a harcot. A gyulladás folyamatának lezajlása szigorú szabályozás alatt áll, hiszen ez a folyamat akut fázisból krónikusba lépve súlyos szövődeményeket okozhat. A krónikus gyulladásos betegségek között a már fiataloknál is kialakuló, a tápcsatorna egy részét vagy egészét érintő gyulladásos bélbetegségek (IBD), mint például a Crohn-betegség és a colitis ulcerosa, a népesség egyre nagyobb százalékát érintik. A

szakirodalomban igen csekély számú és ellentmondásos adat található arra nézve, hogy a fizikai aktivitás hogyan, milyen irányban befolyásolja az IBD-s betegek egészségi állapotát.

Számos molekulának tulajdonítanak fontos szerepet a gyulladással járó immunfolyamatok negatív szabályozásában, mely segítségével a gyulladáskeltő aktivitás kontrollálható. Ilyen molekulák többek között a TAM-receptor-család, valamint az NLR géncsalád tagjai. Habár az NLR géncsaládba tartozó NOD2 polimorfizmusokat számos tanulmány egyenes összefüggésbe hozta a Crohn-betegséggel, mind a TAM, mind az NLR-család tagjainak kifejeződése gyulladásos bélbetegségekben nagyrészt ismeretlen.

Munkacsoportunk patkányokon végzett TNBS-indukált IBD-modell segítségével a TAM- és NLR-család egyes tagjainak (pl. Axl, Tyro3, ProS, NLRP3, NLRP6), valamint gyulladáskeltő citokinek/kemokinek (pl. TNF- α , IL-1 β , IL-8) génexpressziós mintázatát követte nyomon rekreatív jellegű mozgásos tevékenység során, és hasonlította össze fizikai aktivitást nem végző állatok génexpressziós értékeivel. Kvantitatív real-time PCR-rel kapott eredményeink azt mutatják, hogy amíg a rekreatív jellegű fizikai aktivitás önmagában csökkenti a vérből izolált mononukleáris sejtekben a gyulladáskeltő effektorok kifejeződését, addig ez gyulladás esetén már nem következik be. A bélszakaszokat vizsgálva megállapítottuk, hogy a gyulladt régiókban jelentősen megnövekszik az összes vizsgált gyulladáskeltő effektormolekula expressziója, ezzel szemben a negatív szabályozó molekulák kifejeződése nem mutat egységes képet. Amíg ugyanis az Axl, a ProS és az NLRP3 expressziója jelentősen megemelkedik, addig a Tyro3 és a NLRP6 kifejeződése csökken.

Eddigi megfigyeléseink arra utalnak, hogy a gyulladásos területeken a rekreatív jellegű fizikai aktivitásnak nincs hatása a vizsgált gének kifejeződésére. Ugyanakkor az egyes negatív szabályozó molekulák kifejeződésének csökkenése előidézheti a gyulladáskeltő effektormolekulák folyamatos és magas szintű expresszióját.

TLR3/MDA5-INDUKÁLT KEMOKIN- ÉS INTERFERONVÁLASZ HUMÁN MELANOMASEJTEKBE

SZABÓ ATTILA, ROLAH M. OSMAN, BACSKAI ILDIKÓ, BRAHMA V. KUMAR, AGOD ZSÓFIA, LÁNYI ÁRPÁD, GOGOLÁK PÉTER, RAJNAVÖLGYI ÉVA

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Immunológiai Intézet, Debrecen

Bevezetés. A melanoma a bőrtumörök egyik legagresszívabb formája, melynek incidenciája az elmúlt három évtized során folyamatosan nőtt. Ismert, hogy a transz-retinsav (ATRA) és a szintetikus polyI:C erős aktivátorai a TLR3 és MDA5 gének expressziójának és polyI:C-kezelés hatására in vitro TLR3-MDA5-függő sejthalál idézhető elő melanomasejtekben.

Munkánk során az ATRA-előkezelést követő polyI:C aktiválás hatásait vizsgáltuk humán melanomasejtekre.

Módszerek. Kísérleteinkhez WM35 és WM983A (ATCC) sejtvonalakat használtunk, a transwell migrációs vizsgálatokat emberi monocytaredetű dendritikus sejtek (moDC) és macrophagok (moMAC) jelenlétében hajtottuk végre. A CD1a+ és CD1a- moDC alpopulációk elválasztását FACS DiVa készülékkel végeztük. A gén- és fehérjeszintű kifejeződést QPCR (mRNS), Western-blot (fehérje) és ELISA (citokin) módszerrel mértük. RNS-interferencia kísérleteink során elektroporációs technikát alkalmaztunk.

Eredmények. A kombinált ATRA + polyI:C kezelés hatására a TLR3 és MDA5 gének és fehérjék expressziója, illetve az IFN β , CXCL1, CXCL8/IL-8, CXCL9 és CXCL10 citokinek szekréciója szignifikánsan magasabb volt, mint az ATRA- vagy polyI:C-kezelés esetén. Az MDA5 gén csendesítése mérsékelten csökkentette a sejtek IFN β -termelését, míg a TLR3 gén kifejeződésének gátlása mind az IFN β , mind a CXCL kemokinek szintjét jelentősen csökkentette. Az ATRA + polyI:C által aktivált melanomasejt-kultúrák felülűző mintái – TLR3-függő módon – szignifikánsan erősebben fokozták a CD1a+ moDC-k és a moMAC-k migrációját, mint az ATRA-val vagy polyI:C-vel külön-külön kezelt sejt-kultúrákból nyert minták.

Következtetések. Az egymást követő ATRA- és polyI:C-kezelések erős, TLR3- és MDA5-függő kemokin- és interferonválaszt váltanak ki humán melanomasejtekben, mely jelentősen fokozza a professzionális antigénprezentáló sejtek migrációját. Ez az új típusú, kombinált kezelés hatékony alternatívát jelenthet a melanomaterápiában.

KLONÁLIS HETEROGENITÁS AZ EGÉR CSONTVELŐI MESENCHYMALIS ÖSSEJT-POPULÁCIÓBAN

SZABÓ ENIKŐ¹, CZIBULA ÁGNES¹, KRISTON-PÁL ÉVA¹, FAJKA-BOJA ROBERTA¹, UHER FERENC², MONOSTORI ÉVA¹

¹MTA Szegedi Biológiai Központ, Genetikai Intézet, Szeged

²Országos Hematológiai és Vértranszfúziós Intézet, Budapest

A csontvelői mesenchymalis őssejtek (BMMSC) multipotens stromasejtek, amelyek a csontvelőben haematopoieticus niche kialakításáról gondoskodnak, rendelkeznek mesodermális differenciálódási képességgel, támogatják az angiopoiesist és immunmoduláló hatásúak. Ezen képességeik alapján alkalmassak regeneratív terápiás felhasználásra, mely napjainkban intenzív kutatási terület. Eddig kevés tanulmány született arról, hogy ezekben a tulajdonságokban a BMMSC-populáció mutat-e valódi funkcionális heterogenitást. A BMMSC-t definiáló tulajdonságai közé tartozik, hogy in vitro adipocytá, chondrocytá és osteoblast irányba differenciálhatóak legyenek. Korábbi kísérletek tanulsága szerint differenciálódási potenciál tekintetében, klonális szinten a BMMSC-populáció mutat hete-

rogenitást, a klónok legfeljebb 50%-a képes mindhárom irányba differenciálódni. A BMMSC-k a csontvelőben a sinusoidok fejlődését irányítják. Ennek in vitro modellje, hogy az endothelsejtekkel kapilláriszerű struktúrákat képeznek. Felvetődik a kérdés, hogy a BMMSC angiopoieticus funkciójában is heterogén-e, és ez milyen kapcsolatban áll a differenciálódási képességben tapasztalt heterogenitással. Ezeknek a kérdéseknek a megválaszolására egér-BMMSC-ből monoklonális sejtvonalakat alapítottunk, és vizsgáltuk differenciálódási képességüket adipocytá és osteoblast irányba, illetve endothelsejtekkel együtt tenyésztve a kapilláriszerű struktúra kialakításukat. A BMMSC-klónok mindegyike a BMMSC-hez hasonló módon differenciálódott adipocytá irányba a differenciálódást indukáló faktorok jelenlétében. AdipoReddel (LONZA) a sejtekben lévő zsírcseppek lipidmolekuláit fluoreszcenssen festettük, és áramlási citometriával mértük a fluoreszcencia intenzitását. Ezzel a módszerrel meghatározható a differenciálódás során az adipocyták aránya, és a monoklonális sejtvonalakban felhalmozott lipidek mennyisége is összevethető. A differenciálódás során a sejtvonalak sejtjeiben felhalmozott lipidek mennyiségében és az adipocyták arányában sem kaptunk lényeges különbségeket a BMMSC-hez képest. A monoklonális sejtvonalak in vitro osteoblast irányú differenciálódása egy klón kivételével kiváltható volt indukáló faktorok jelenlétében. A monoklonális sejtvonalak mindegyike egérszív endothel sejtvonallal kokultúrában tenyésztve a BMMSC-hez hasonlóan kapilláriszerű struktúrákat alakított ki, melyek hosszában nem figyeltünk meg lényeges különbségeket. Eredményeinkből az látszik, hogy az általunk létrehozott egércsontvelői mesenchymalis monoklonális sejtvonalak differenciálódási képesség és endothelsejtekkel kapilláriszerű struktúra képzés tekintetében egyenértékűnek tekinthető a kiindulási heterogén BMMSC-vel.

SEJTVONAL-EREDETŰ EXTRACELLULÁRIS VEZIKULATÍPUSOK BIOMARKEREINEK ÖSSZEHASONLÍTÓ ELEMZÉSE

SZABÓ G. TAMÁS¹, SZABÓ-TAYLOR KATALIN¹, PÁLÓCZI KRISZTINA¹, KITTEL ÁGNES², FALUS ANDRÁS¹, BUZÁS EDIT¹

¹Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

²MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Budapest

Bevezetés. Egyre több adat utal a sejteredetű extracelluláris vezikulák immunmodulációs szerepére. Az extracelluláris vezikulák többféle típusa különíthető el; legismertebb típusaik az exoszómák és a mikrovezikulák. Míg e két vezikulatípus jól ismert módon eltérő mechanizmussal keletkezik, a közöttük fellelhető funkcionális különbségek igen kevésbé ismertek. Ennek felderítését hátráltatja az is, hogy igen nehéz tisztán izolálni az egyik vagy másik vezikulatípust. Előzetes, in silico

vizsgálataink ráadásul arra is utaltak, hogy az extracelluláris vezikulák preparátumai gyakran szennyeződhetnek a sejtekből kiszabaduló sejtservecskékkel is. Munkánk során megpróbáltunk tehát nagy tisztaságú mikrovezikula mintát előállítani, és ezt az exoszómákkal összehasonlítani.

Módszerek. A mikrovezikulák (100–1000 nm) és az exoszómák (30–150 nm) elkülönítéséhez differenciálcentrifugálást alkalmaztunk. A mindkét vezikulatípust nagy mennyiségben termelő Bv2 egér mikroglia sejtvonal felülúszójára kidolgozott optimális beállításokat a különböző méretű vezikulák koncentrációváltozásának mérésével ellenőriztük (IZON qNano). Ezekkel a beállításokkal további három sejtvonalból (reticulocytá, hízósejt és T-sejt) izoláltunk apoptotikus test, mikrovezikula, exoszóma és kevert frakciókat. Ismert, illetőleg kandidáns markerek jelenlétét a különböző vezikulapreparátumokon Western-blot-vizsgálattal mutattuk ki. Az RNS-profilokat Bioanalyzer Nano chip segítségével határoztuk meg. Az izolált vezikulák morfológiáját elektronmikroszkópiával ellenőriztük.

Eredmények. Kimutattuk, hogy a mikrovezikulák izolálására általánosan használt módszerekkel exoszómák is kerülnek a mintába. Az általunk továbbfejlesztett protokollal (a centrifugálás idejének jelentős csökkentésével) ennek a „szennyeződésnek” a mértéke a korábbiakhoz képest jelentősen méréselkelhető, és így nagy tisztaságú mikrovezikula-preparátum állítható elő. Az exoszómák alacsony arányát jelzi az exoszómák markereként használatos CD63 alacsony expressziója a rövid ideig centrifugált üledékben. A Bv2-eredetű mikrovezikulák és az exoszómák RNS-profilja különböző, és ez a különbség más sejtvonalak esetében is megfigyelhető.

Következtetések. A mikrovezikulák és az exoszómák funkcionális különbségeinek vizsgálatához elengedhetetlen, hogy a fenti vezikulapopulációkat elkülönítve tudjuk izolálni. Eredményeink alapján ez a centrifugálási idő és erő megfelelő megválasztásával nagyban elősegíthető. Az eltérő vezikulatípusokra jellemző RNS-profilok különbözősége a mikrovezikulák és az exoszómák közötti jelentős funkcionális különbségre utalhat.

EXTRACELLULÁRIS VEZIKULÁK ÉS CITOKINEK KOMBINATORIKUS HATÁSA HUMÁN MONOCYTA SEJTVONAL GÉNEXPRESSZIÓJÁRA

SZABÓ GÉZA TAMÁS¹, SZABÓ-TAYLOR KATALIN¹, ÉDER KATALIN¹, PÁLÓCZI KRISZTINA¹, GYÖRGY BENCE¹, KITTEL ÁGNES², BUZÁS EDIT¹

¹Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

²MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Budapest

Bevezetés. Számos példa ismert az extracelluláris vezikulák (EV) monocytákra gyakorolt immunmoduláló hatására. Mindeddig azonban nem végeztek olyan kísérletet, ahol az EV-k

és citokinek immunsejtekre gyakorolt együttes hatását vizsgálták, holott az EV-k fiziológiás körülmények között is citokinekkel együtt fordulnak elő. Azt feltételeztük, hogy az EV-k citokinekkel kombinációban eltérő választ indukálhatnak monocyták esetében, mint az EV-k és citokinek külön-külön.

Módszerek. CCRF humán T-sejt-lymphoma sejtek 24 órás szérumentes felülúszóját használtuk extracelluláris vezikulák forrásul. A felülúszót 300 g-val centrifugáltuk 10 percig, és az így sejtmentesített, teljes EV frakciót (apoptotikus testek, mikrovezikulák, exoszómák) használtuk a későbbi kísérletek során. Kontrollként vezikulamentesített felülúszót használtunk. U937 humán monocytákat inkubáltunk 24 órán keresztül EV-kal, TNF α -val, IL-17-tel, illetve ezek kombinációjával. Ezt követően a monocytákból RNS-t izoláltunk, majd génexpressziós (44K) microarray analízist, illetve Taqman real-time PCR assay-eket végeztünk.

Eredmények. Az EV-k és citokinek kombinációja eltérő génexpressziós mintázatot indukált GeneSpring hierarchikus klaszterezés alapján, mint a kétféle kezelés külön-külön. Gene set enrichment analysis szerint az EV-k által indukált gének jelentős része az IL-8-hoz kapcsolódott. Elsősorban a gyulladásos, stressz, fagocitózis és sejt migrációs gének indukálódtak. Kiválasztott gének, így az IL-8, CD36, CCL-2, cannabinoid receptor 2, chitinase 3-like protein 1, peroxiredoxin 1, béta-hexozaminidáz, tissue és plazma alfa-fukozidáz expressziójának megváltozását Taqman assay-kel is sikeresen igazoltuk.

Következtetések. Kísérleteinkkel igazoltuk, hogy a citokinek és EV-k kombinatorikus parakrin hatása bizonyos gének esetében egymástól független, más esetben additív, szinergisztikus vagy ellentétes. Az extracelluláris vezikulák és citokinek együttes vizsgálata a korábbiaknál teljesebben modellezheti a sejtek in vivo környezetéből érkező hatásokat.

A PERIFÉRIÁN TALÁLHATÓ FOLLICULARIS T-HELPER-SEJTEK PATOLÓGIÁS SZEREPE PRIMER SJÖGREN-SZINDRÓMA KÜLÖNBÖZŐ FENOTÍPUSAI ESETÉN

SZABÓ KRISZTINA, PAPP GÁBOR, BARÁTH SÁNDOR, GYIMESI EDIT, SZÁNTÓ ANTÓNIA, ZEHER MARGIT

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék, Debrecen

Bevezetés. A primer Sjögren-szindróma (pSS) patogenezisében fontos szerepet játszik a humorális immunválasz működésének zavara, mely a B-sejtek fokozott aktivációjában és autoantitestek termelődésében nyilvánul meg. Az elmúlt évek egyik legintenzívebben tanulmányozott sejtje típusa a follicularis T-helper-sejt (TFH), amelynek kiemelt szerepet tulajdonítanak a B-sejtek proliferációjában, memória-, ill. plazma-sejt irányba történő differenciációjában. Munkánk során a

TFH sejteknek a pSS patogenezisében betöltött szerepét vizsgáltuk, különös tekintettel az extraglandularis tünetekkel (EGM) való összefüggésekre.

Módszerek. Vizsgálatainkba 50 pSS-es beteget (25 csak glandularis tünetekkel és 25 EGM-mel), illetve 16 kontroll személyt vontunk be. Perifériás vérben áramlási citométer segítségével meghatároztuk a CD4+CXCR5+ICOS+PD-1+ TFH-sejtek és számos lymphocita alpopuláció százalékos arányát, illetve ELISA-módszerrel megmértük a szolúbilis citokinek szintjét és az autoantitestek titerét. A statisztikai vizsgálatokat GraphPad Prism 5 és SPSS v16.0. program segítségével végeztük.

Eredmények. A teljes betegpopuláció eredményeinek kiértékelése során emelkedett perifériás TFH sejtarányt tapasztaltunk. Miután két külön betegcsoportot képeztünk az EGM jelenléte, illetve hiánya alapján, érdekes módon csak az EGM-et mutatók esetében adódott szignifikáns különbség, míg a glandularis tüneteket mutató betegek értékei az egészséges kontrollokénak feleltek meg. Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk az aktivált T- és TFH-sejtek, valamint a Tr1- és TFH-sejtek között, míg az IgM memória B- és TFH-sejtek, továbbá az IgG memória B- és TFH-sejtek között szignifikáns negatív korrelációt tapasztaltunk. Az anti-SSA-pozitív betegcsoportban a TFH-sejtek aránya szignifikánsan magasabb volt az anti-SSA-negatív és a kontroll csoportokhoz képest. Továbbá azoknál a betegeknél, akiknél magasabb IL-12 és IL-21 szérumcitokinszinteket mértünk, a TFH-sejtek aránya is szignifikánsan magasabbnak bizonyult.

Következtetések. Eredményeink szerint pSS-ben a megemelkedett TFH-sejtarány összefüggést mutat a B-sejtek arányával és az autoantitestek titerével, amely aláhúzza a TFH-sejtek jelentőségét a betegség patogenezisében.

BIOMARKERVIZSGÁLAT ÉS DÖNTÉSTÁMOGATÓ RENDSZER KIALAKÍTÁSA AZ IMMUNTERÁPIÁS KEZELÉS HATÉKONYSÁGÁNAK NÖVELÉSÉRE ALLERGIÁBAN: A DESENSIT PROJEKT BEMUTATÁSA

SZALAI CSABA¹, MOLNÁR VIKTOR¹, KOZMA T GERGELY¹, NAGY ADRIENNE¹, BERTA ANDRÁS¹, ANTAL PÉTER², BÁLINT L. BÁLINT², NAGY LÁSZLÓ², TAMÁSI LILLA³, GÁLFFY GABRIELLA³, BÖCSKEI RENÁTA³, CZALLER IBOLYA³

¹Csertex Kft., Debrecen

²Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Debrecen

³Semmelweis Egyetem, Pulmonológiai Klinika, Budapest

Magyarországon az allergiás betegek száma évről évre növekszik. Jelenleg minden 4-5. magyar lakos allergiás, többségük parlagfű okozta szénanáthában szenved, amely életminőségüket, munkabírásukat is súlyosan rontja, újabb allergiák kialakulására, ill. a betegség asztmába való progressziójá-

ra hajlamosíthatja őket. Az egyetlen oki terápia – az allergénspecifikus immunterápia – az allergéntolerancia kiépítésével a tüneteket jelentősen csökkenti már az első szezonban, hosszú távon költséghatékony, használatával a betegek életminősége gyorsan javul, ugyanakkor megelőzhető újabb allergiák kialakulása, ill. a betegség progressziója. Az allergénspecifikus immunterápiában (SIT) részesülő betegek egy része, nem pontosan tisztázott okok miatt, nem reagál az elvárt mértékben a kezelésre, részben ennek köszönhetően a terápiás adherencia gyenge, és nagymértékű a lemorzsolódás. A feltételezett okok között szerepelnek genetikai tényezők, klinikai és pszichológiai jellemzők, a kezelés magas ára, a hosszú kezelési idő. Eddig nemzetközi szinten sem történt erre irányuló vizsgálat, ezért nem ismertek még olyan biomarkerek, amelyek megfelelő szinten támogatni tudnák az orvosok döntését az allergénspecifikus immunterápia indításában meglevő indikációk esetén sem.

A fent vázolt kérdések megválaszolására indítottuk el a DesensIT projektet, amelyben a Csertex Kft. és a Debreceni Egyetem együttműködésével biológusok, informatikusok, klinikusok, pszichológusok és laboratóriumi munkatársak, az alkalmazott allergénspecifikus immunterápiára megfelelően és arra gyengén reagálók csoportjai között különböző genomikai, immunológiai, klinikai, pszichológiai jellemzők szerepét vizsgálják. A tervezett Bayes-hálós alapú matematikai modell alkalmazása az óriási tömegű adatok elemzésében is újdonságnak számít. Előadásunkban ismertetjük a projekt elméleti hátterét, céljait és eddigi eredményeit.

RHEUMATOID ARTHRITISES BETEGEK B-SEJTJEI CITRULLINTARTALMÚ FILAGGRIN, VIMENTIN ÉS KOLLAGÉN PEPTID SPECIFIKUS ELLENANYAGOKAT TERMELNEK MIND IN VIVO, MIND IN VITRO KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT

SZARKA ESZTER¹, HUBER KRISZTINA¹, POZSGAY JUDIT¹, KÖVESDI DOROTTYA¹, BABOS FRUZZSINA², BAKA ZSUZSANNA³, GÁTI TAMÁS⁴, MAGYAR ANNA², HUDECZ FERENC², NAGY GYÖRGY^{3,4}, ROJKOVICH BERNADETTE⁴, SÁRMAY GABRIELLA¹

¹Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest

²MTA-Eötvös Loránd Tudományegyetem, Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest

³Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

⁴Budai Irgalmasrendi Kórház, Budapest

Bevezetés. A rheumatoid arthritis (RA) szisztémás, autoimmun betegség, amelyre a sokizületi gyulladás jellemző. A betegek ~70 százalékában jelen vannak az anti-citrullinált protein/peptid specifikus antitestek (ACPA), amelyek érzékeny és szenzitív markerek a kór diagnózisában és prognózisában.

Egyes fehérjék (filaggrin, fibrin, vimentin, kollagén, α -enoláz) az RA kialakulását megelőzően a peptidil-arginin-deimináz enzim (PAD) aktiválódása következtében citrullinálódnak, és a citrullináció következtében autoantigénné válnak, így az ACPA-termelés célfehérjei lehetnek.

Módszerek. Citrullin/arginin tartalmú filaggrin, kollagén és vimentin epitóp peptidokat vizsgáltunk indirekt ELISA-módszerrel RA-s és egészséges szérummintákon, illetve izolált B-sejtek felülszójában vizsgáltuk a peptidspecifikus ellenanyag-termelést.

Eredmények. Az RA-s betegek szérummintái csoportokba sorolhatók bizonyos citrullintartalmú peptidok, illetve ezek kombinációjának felismerése szerint. A felismert peptidok száma korrelált a betegség súlyosságával, valamint az anti-CCP- és anti-MCV-titerrel. Sikeres kimutatnunk RA-s B-sejtek in vitro tenyésztésének felülszójából citrullintartalmú peptidokra specifikus ellenanyagokat. Kompetitív ELISA-mérésekben az adott peptidra specifikus ACPA-k nem ismerték fel a másik peptidet.

Következtetés. Sikeres azonosítanunk egy olyan peptidkombinációt, amely alkalmazása javítaná a jelenlegi diagnosztikai lehetőségeket. A CCP2-, MCV- és RF-negatív minták ~20%-a a peptidkombinációk alkalmazásával ACPA-pozitívnak bizonyult. Az egyes peptidok nem gátolják egymás felismerését, ez az ACPA-válasz poliklonalitására utal.

KOMPLEMENTAKTIVÁCIÓS PSZEDOALLERGIA: A MODERN FARMAKOTERÁPIA KISZÁMÍTHATATLAN IMMUNBARRIERE

SZEBENI JÁNOS¹, BEDŐCS PÉTER¹, WEISZHÁR ZSÓKA², MILOSEVITS GERGELY¹, MÉSZÁROS TAMÁS¹, BENEDEK KÁLMÁN¹, ROSIVALL LÁSZLÓ¹, URBANICS RUDOLF²

¹Semmelweis Egyetem, Kórélettani Intézet, Budapest

²Seroscience Kft.

Bevezetés. Az intravénásan adott, 20–100 nm átmérőjű liposzómákat, micellákat vagy egyéb gyógyszer szállító nanorészecskéket tartalmazó ún. „nanogyógyszerek” nagy részét az immunrendszer idegenként ismeri fel és egy akut válaszképet generál, melynek fontos eleme a komplement- (C) rendszer aktiválódása. Az ilyen „reaktógén” nanogyógyszereknek legismertebb példái a liposzómális gyógyszerek (Doxil/Caelyx, AmBisome), antitest- és más fehérjealapú gyógyszerek (biologikumok), polimerek, polimer konjugált fehérjék és röntgenkontrasztanyagok. A C-aktiválás következményeként felszabaduló anafilatoxinok (C3a, C5a), nevüknek megfelelően egy többé-kevésbé súlyos anafilaktoid reakciót okoznak, melyet hiperszenzitivitáshoz, infúziós, ill. C-aktivációs pszeudoallergiának (C activation-related pseudoallergy, CARPA) is neveznek. A CARPA az I-es típusú hiperszenzitivitás egy nem IgE-mediált új alosztályának tekinthető, melynek klinikai jelentőségét az adja, hogy a betegek egy kis százalékában súlyos vagy halálos is lehet, mindazonáltal jelenleg

nincs módszer, amellyel a reakciót prognosztizálni, megelőzni vagy specifikusan kezelni lehetne. Kísérleteink célja a fenti hiányok pótlása volt, így vizsgáltuk a nanomedicina struktúra-C-aktiválás és CARPA-reaktivitás összefüggéseit, a CARPA mechanizmusában a C5 és tromboxán A2 szerepét, a CARPA laboratóriumi predikciójának és megelőzésének néhány lehetőségét.

Módszerek. Komplementaktivációs termékek mérése reaktógén nanogyógyszerekkel kezelt rákbetegek vérében és in vitro, emberi és állati szérumokban reaktógén gyógyszerrel történő inkubálás során ELISA (C3a, C5a, C4d, Bb, SC5b-9) és a birka-vvt hemolízis assay (CH50) alkalmazásával, áramlási citometria a bazofil leukocyták aktiválódásának mérésére, hemodinamias és egyéb fiziológias változások mérése reaktógén nanogyógyszerekkel kezelt malacokban.

Eredmények. 1. A liposzómák alakja, nagysága, homogenitása, valamint gyógyszer tartalma hatással vannak a C-aktivációra. 2. A C-aktiváció oki vagy kiegészítő, de nem rate-limitáló szerepet tölt be a CARPA tünetek létrejöttében. 3. Aggregáció hozzájárulhat a C-aktiváláshoz és CARPA kialakulásához Doxil és feltehetően más nanopartikulumok esetén. 4. A malacokban tapasztalható fiziológias elváltozások önkioltók lehetnek (tachifilaxis); 5. A CARPA megelőzhető placebo („üres”), önliposzómákkal történő deszenzitizálással.

Következtetések. 1. A nanogyógyszerek és biologikumok terjedésével a CARPA-predikció és -prevenció növekvően fontos szerepet kap a gyógyszerterápiában. 2. Komplement- és bazofil leukocyták aktiválás mérések és a malac CARPA-mo-dell felhasználása lehetővé teszik a nanogyógyszerek reaktivitásának predikcióját általában és egy adott gyógyszer/adott individuum esetében. 3. A reakciók bizonyos esetekben megelőzhetők a leírt deszenzitizálással.

A SZEMÉLYRE SZABOTT CÉLZOTT TERÁPIA LEHETŐSÉGEI AUTOIMMUN BETEGSÉGEKBEN

SZEKANECZ ZOLTÁN

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Reumatológiai Tanszék, Debrecen

A gyulladásos autoimmun reumatológiai kórképekben, pl. rheumatoid arthritisben (RA) a betegek nem egyformán reagálnak a különböző gyógyszeres kezelésekre. Nagy szükség van olyan biomarkerekre, melyek alapján a terápiás hatás vagy ineffektivitás előre jelezhető lenne. Az ilyen markerek között vannak klinikai-életmódi tényezők. Dohányosokban például egyes biologikumok hatása csökkent. A sejtes-immunológiai markerek közül a perifériás vagy synovialis B-sejtszám, a makrofáginfiltráció mértéke függhet össze a gyógyszerhatással. A szerológiai biomarkerek közül RA-ban a legnagyobb jelentősége az anti-citrullinált fehérje autoantites-

teknek (ACPA) van. Az ACPA-szeropozitív és -szeronegativak eltérő választ adnak a biológiai terápiára. Talán a legtöbb kutatás a farmakogenetika és farmakogenomika területén zajlik. Itt egyes gének (pl. TNF, FCGR, IL-6) polimorfizmusai (SNP) vagy több génből álló expressziós mintázatok mutatnak összefüggést a klasszikus immunszuppresszív szerek (pl. methotrexat, szulfaszalazin) vagy a biologikumok (pl. TNF-gátlók, rituximab, tocilizumab) hatékonyságával. Az előadásban áttekintjük az ezen témára vonatkozó irodalmi ismereteket néhány saját vizsgálatot is beépítve.

GENETIKAI ÉS FARMAKOGENOMIKAI VIZSGÁLATOK KRÓNIKUS RHINOSINUSITISBEN

SZÉLL MÁRTA¹, SZABÓ KORNÉLIA¹, KIRICSI ÁGNES², RÉVÉSZ MÓNKA²,
VÓNA IDA³, SZABÓ ZSOLT⁴, BELLA ZSOLT², POLYÁNKA HILDA¹

¹MTA-Szegedi Tudományegyetem Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

²Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

³Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

⁴Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Kórház és Egyetemi Oktató Kórház, Miskolc

Krónikus rhinosinusitis orrpolipózis nélküli (CRSNP-) és orrpolipózissal járó (CRSNP+) kór állapotainak tüneteitől szenvedő betegeink körében genetikai vizsgálatokat végzünk, melyek két célt szolgáltak: egyrészt olyan öröklődő faktorokat szeretnénk azonosítani, amelyek hozzájárulnak ezen multifaktoriálisan meghatározott kór képek kialakításához, másrészt célnünk olyan marker azonosítása, amely összefüggést mutat az orrpolipózis kezelésére munkacsoportunk által bevezetett rhinofototerápiás válaszkészséggel.

A CRS patogenezisében központi szerepet tölt be a gyulladásos folyamatok szabályozásának egyik kulcsmolekulája, a tumor nekrosis faktor α (TNF α). Munkánk során ezért esetkontroll vizsgálatokat végeztünk annak felderítésére, hogy a TNFA gén kifejeződését meghatározó egyik variáns, a -308 G>A egynukleotidos polimorfizmus (SNP) hozzájárul-e a betegség kialakításához. Sem genotípuseloszlásban, sem allél-frekvencia tekintetében nem találtunk különbséget az egészséges kontroll populáció és a CRS betegek között, ugyanakkor a betegek klinikai tünetei alapján történt alcsoportokra való bontása megmutatta, hogy az aszpirinszenzitív (ASA+), orrpolipózisban szenvedő betegek körében a ritka „A” allél hordozása szignifikánsan ($p = 0,02$) magasabb arányú. Eredményeink arra utalnak, hogy a CRSNP+ASA+ betegek klinikailag igen jól elkülönülő csoportja esetében a TNFA gén -308 G>A SNP-je genetikai predisponáló faktorként járul hozzá a betegség patogeneziséhez.

Egy másik kísérletben azt vizsgáltuk, hogy a TNFA gén -863 C>A polimorfizmusa – melyről ismert, hogy szerepet játszik a bőr immunfunkcióinak szabályozásában – befolyásolja-e a rhinofototerápiás válaszkészséget az orrpolipózisban szenvedő betegek körében. A vizsgálatokat 46 beteg bevonásával végeztük, tüneteik javulását pontozási rendszerrel követtük. Eredményeink szerint azok az orrpolipózisban szenvedő betegek, akik a polimorfizmus ritka „A” variációját hordozzák, szignifikánsan ($p < 0,003$) jobb eséllyel reagálnak a rhinofototerápiás kezelésre, mint a vad típusra homozigóta betegtársaik. Eredményeinkkel remélhetőleg hozzájárulunk egy igen gyakori betegség, a krónikus rhinosinusitis patogenezisének megismeréséhez, és egy ígéretes terápiás eljárás, a rhinofototerápia orrpolipózis kezelésére való bevezetéséhez.

KOMPLEMENTDEFEKTUS GYANÚJA ESETÉN VÉGZETT VIZSGÁLATOK BEMUTATÁSA EGY IMMUNDEFICIENCIA MIATT GONDOZOTT BETEG KIVIZSGÁLÁSA KAPCSÁN

SZILÁGYI ÁGNES¹, VARGA LILIAN¹, PROHÁSZKA ZOLTÁN¹, DÉRFALVI BEÁTA²

¹Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

²Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar, II. Sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

A veleszületett komplementdefektusok legtöbb esetben halmozódó infekciókkal társulnak, és gyakori a szisztémás autoimmun betegség megjelenése is. Előadásunkban egy féléves kora óta ritkuló tendenciával beteg kisgyermek kivizsgálásának ismertetésével bemutatjuk, hogy a komplementdefektusok gyanúja esetén milyen vizsgálatok indokoltak, és értékelésükkel hogyan lehet azonosítani a hiányzó komplement-faktort.

A beteg első életéveiben átlagosan évi 10-14 alkalommal részesült antibiotikus kezelésben főként felső légúti megbetegedések miatt. Infekciói rendre felszínesek maradtak, és szövődménymentesen gyógyultak 5-14 nap alatt. 5 éves korában alacsony IgA- és IgG-szintet észleltek. Családi anamnézisében nem szerepel immunhiány, szisztémás autoimmun betegség vagy reumatológiai kórkép. További kivizsgálása során végzett komplementmérések (funkcionális szűrőteszt, komplementfaktorok analízise) normál C4- és C3-szint mellett a klasszikus út és a lektin út aktivitás hiányára utaltak, melynek hátterében C2-deficienciát észleltünk. A molekuláris genetikai vizsgálatok (PCR, szekvenálás) alátámasztották a C2-deficienciát, a beteg a C2 génjében homozigóta formában hordoz egy 28 bp-t érintő deléciót, amelyet korábban az I-es típusú C2-deficiencia hátterében azonosítottak.

A család kivizsgálása során bebizonyosodott, hogy a szülők heterozigóta C2-deléció-hordozók, esetükben szintén csökkent (de nem deficiens) komplementaktivitást észleltünk.

Igazolt komplementdeficiencia esetén lényeges többször újraoltani a beteget a kötelező és javasolt oltásokkal, és ellenőrizni az oltások hatékonyságát, mivel az antigénprezentáció sérülése miatt ezekben a betegekben rendre alacsony szinten vagy hiányosan alakul ki a várt immunválasz. Az immunkomplex-clearance-mechanizmus sérülése miatt indokolt a klasszikus reakcióút komponenseinek deficienciája esetén rendszeresen ellenőrizni az szisztémás autoimmun kórkép esetleges kialakulását is. Betegünknek 9 éves korában pillangóerythemának megfelelő elváltozás jelent meg az arcán, azonban egyéb SLE-re utaló klinikai vagy laboratóriumi eltérést nem észleltünk.

SEJTEK ALKALMAZÁSA IMMUNOLÓGIAI REAKTIVITÁS ANTIGÉN MÁTRIXOKON TÖRTÉNŐ VIZSGÁLATÁRA

SZITTNER ZOLTÁN^{1,2}, PAPP KRISZTIÁN^{2,3}, SÁNDOR NOÉMI³, BAJTAY ZSUZSA¹
PRECHL JÓZSEF^{2,3}

¹Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar, Immunológiai Tanszék, Budapest,

²Diagnosticum Zrt., Budapest

³MTA-Eötvös Loránd Tudományegyetem Immunológiai Kutatócsoport, Budapest

Mikromátrixba rendezett antigének segítségével szérumminták antigénspecifikus reaktivitása megállapítható, melynek eredményeként nagyszámú antigén egyidejű vizsgálata immunprofil-meghatározást tesz lehetővé. A szérummal történő inkubáció során képződő immunkomplexek egyes komponenseit másodlagos ellenanyagokkal azonosíthatjuk. Munkánk során azt vizsgáltuk, hogyan helyettesíthetők ezek az ellenanyagok fluoreszcensen jelölt sejtekkel. Szervezetünkben az immunkomplexek feldolgozása a csontvelői eredetű fagociták, többek között a monociták feladata.

A mikromátrix elkészítése során nitrocellulóz felszínre nyomtattuk a vizsgálni kívánt antigéneket és kontroll anyagokat. Felhasználáskor a fehérjéket rehidratáltuk, majd szérumkezelést követően vagy anélkül, fluoreszcensen jelölt sejtekkel vagy másodlagos ellenanyagokkal végeztük el az előhívást. Munkánk során elsősorban az U937 monocitoid sejtvonallal dolgoztunk, áramlási citofluoriméterrel ellenőriztük az immunkomplexek felismeréséhez szükséges receptorok jelenlétét és beállítottuk a sejtek fluoreszcens jelölését.

Jellemeztük a sejtek kitapadását IgG alosztályokhoz, ami hasonlóságot mutat és részint következtethető az Fcγ-receptoroknál megfigyelhető, egyes alosztályokkal szembeni affinitáskülönbségekből (IgG3>IgG1>IgG4>IgG2). A receptorok adhézióban betöltött szerepét blokkolós kísérletekkel is megerősítettük. Ezek alapján az U937 sejtek IgG alosztályokhoz történő kitapadása teljes mértékben az IgG nehéz lánc és az Fcγ-receptorok interakciójának következménye, melyet

befolyásol az IgG nehéz láncok szerkezete és azok glikoziláltsága is. Bemutattuk továbbá miként alkalmazható a rendszer SLE-s és egészséges donoroktól származó szérumminták vizsgálatára.

Eredményeink alapján azt gondoljuk, hogy a sejtekkel történő antigén microarray előhívás fontos eleme lehet egy funkcionális immunprofil megállapítását célzó rendszernek.

ERBB2-POZITÍV TUMOROK IMMUNTERÁPIÁJA A MOLEKULÁRIS KÖLCSÖNHATÁSOK TÜKRÉBEN

SZÖLLŐSI JÁNOS, NAGY PÉTER, VEREB GYÖRGY

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

Bevezetés. Az emlőkarcinómák 30–40%-ában kimutatható az overexpresszált ErbB2 receptor tirozinkináz, amely specifikus humanizált monoklonális antitest, a trastuzumab (TR, Herceptin) terápiás célpontja. Az ilyen tumorok ~60%-ában azonban eleve trastuzumabrezisztencia figyelhető meg, vagy alakul ki egy éven belül, és a prognózis igen rossz.

Anyagok és módszerek. A rezisztencia okainak feltárása, leküzdése, terápiás stratégiák tervezése a sejtszintű molekuláris kölcsönhatások megértését célzó biofizikai vizsgálatokon túl in vivo verifikációt is igényel. A kísérletekben az ismert TR-szenzitív sejtvonalak mellett központi szerepe van a klinikailag trastuzumabrezisztens ductalis karcinómából izolált JIMT-1 sejtvonalnak.

Eredmények. A hasonló mennyiségű ErbB2-t kifejező szenzitív sejtekkel összevetve a JIMT-1 sejteken jelentősen gyengébb a TR kötődése, amivel összhangban áll, hogy a JIMT-1 sejtek szolúbilis TR-rel történő kezelése nem változtatja meg az ErbB2 FRET-tel mérhető homoasszociációját, sem pedig egyébként is alacsony szintű autofoszforilációját. Ugyanakkor TR-rel borított mikrogöngyöggel hatékonyan lehet aktiválni a JIMT-1-sejtek ErbB2-molekuláit, ami felveteti a sztérikus gátlás lehetőségét. Ebben a sejtcortex molekulák szerepét alátámasztja, hogy a TR kötődését a MUC4 sialomucin komplex elleni interferáló RNS jelentősen fokozza, valamint az, hogy a hialuronsav-receptor CD44-et nagymértékben kifejező sejteket xenograftként hordozó SCID egerek hialuronsav-szintézisét 4-metil-umbelliferonnal gátolva az in vivo TR-rezisztencia megszüntethető. A CD44-expresszió klinikai mintákban is korrelál a TR kötődésével. Az ECM rezisztenciabeli szerepét tovább erősíti, hogy a frissen tripszinezett sejtek inokulációjával párhuzamosan kezdett TR-kezelés SCID egérben hosszabb ideig gátolja a tumor növekedését, ellenében a késői terápiával, mely az eredetül szolgáló humán daganat esetéhez hasonlóan ineffektív. Mi több, a viszonylag fejletlen sejtcortexszel rendelkező keringő és disszeminált tumorsejtek még akkor is eliminálásra kerülnek, amikor a pri-

mer tumor már rezisztenssé válik. A hatás hátterében ADCC mechanizmus azonosítható, mivel az *in vitro* azonos hatású TR (Fab)2 *in vivo* hatástalan. A TR-kezelést pertuzumabbal (PR, Omnitarg), egy ErbB dimerizációt gátló humanizált antitesttel kombinálva az ADCC-hatás jelentősen fokozható, feltehetőleg azért, mert az azonos molekulához a sejtmembrántól távolabb kötődő PR fokozza az immunszinapszis denzitását és stabilitását.

Következtetés. Az immunterápiás célpontok molekuláris kölcsönhatásainak feltérképezése lehetővé teszi hatékonyabb, kombinált kezelések tervezését, a terápiarezisztencia megértését és leküzdését.

A KERATINOCYTÁK ÉS A PROPIONIBACTERIUM ACNES BAKTÉRIUM KÖLCSÖNHATÁSÁNAK SZEREPE AZ ACNE PATOGENEZISÉBEN

TAX GÁBOR¹, BOLLA BEÁTA SZILVIA¹, ERDEI LILLA¹, URBÁN EDIT², KEMÉNY LAJOS^{1,3}, SZABÓ KORNÉLIA³

¹Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet, Szeged

³MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

Az acne a serdülőkorú populáció nagy százalékát érintő gyulladásos bőrbetegség, amelynek kialakulásában az epidermalis keratinocyták abnormális működése központi szerepet játszik.

Laboratóriumunk korábbi munkái alapján ismert, hogy az acne patogenezisében szerepet játszó *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) baktérium egyes törzsei megváltoztatják az *in vitro* tenyésztett immortalizált humán keratinocyták (HPV-ker) proliferációs viszonyait és életképességét. Ezzel párhuzamosan olyan molekuláris változások indulnak, amelyek hatására a bőrsejtek aktivált állapotba kerülnek, mely folyamatoknak fontos szerepe lehet az acnés laesiók kialakításában.

Munkánk során célunk a *P. acnes* hatására bekövetkező sejtbológiai változások pontos nyomon követése, és az ezek hátterében álló molekuláris folyamatok részletes megismerése.

Kísérleteinkben három különböző *P. acnes* törzs (889, 6609, ATCC 11828) hatását vizsgáltuk a HPV-ker sejtek proliferációjára és életképességére valós idejű, impedancia mérésének elvén alapuló technológia felhasználásával, amely kísérletekben a sejteket öt különböző sejt-baktérium arányban (1:25, 50, 100, 200 és 300 multiplicity of infection; MOI = 25, 50, 100, 200, 300) kezeltük.

A *P. acnes* 889 jelű izolátum esetén emelkedett sejtdex- (CI) értékeket figyeltünk meg a kezeletlen kontroll sejtekhez képest 24-36 órával a baktériumkezelést követően, magas MOI alkalmazása esetén (200, 300). Hemocitóméter-

rel történő számolással igazoltuk, hogy a megfigyelt CI-változásokat a HPV-ker sejtek fokozott proliferációja eredményezte, mellyel párhuzamosan a Ki67 keratinocyta proliferációs marker mRNS-szintű kifejeződése is növekedett. Később, 36-72 órával a *P. acnes* 889 és ATCC 11828 kezelést követően (MOI 200, 300) a CI-értékek jelentős csökkenést mutattak a HPV-ker sejtek pusztulása következtében. A *P. acnes* 6609 izolátum az alkalmazott kísérleti paraméterek mellett sem a HPV-ker sejtek proliferációs folyamataira, sem az életképességére nem volt hatással.

Molekuláris vizsgálataink során az eltérő dózisban alkalmazott különféle *P. acnes* törzsek hatását is vizsgáljuk a HPV-ker sejtek aktivációs folyamataiban szerepet játszó gének (TNFA, IL-1A) kifejeződésére valós idejű RT-PCR módszer alkalmazásával. Eredményeink azt mutatják, hogy a fenti gének expressziós különbségeinek hátterében törzs- és dózisspecifikus eltérések állhatnak.

Eredményeink hozzájárulhatnak az egyik leggyakoribb bőrbetegség molekuláris patogenezisének jobb megismeréséhez.

HUMÁN DEFENZINEK TERMELŐDÉSE OPPORTUNISTA CANDIDA ALBICANS, C. KRUSEI, C. TROPICALIS ÉS C. PARAPSILOSIS HATÁSÁRA

TISZLAVICZ ZOLTÁN¹, GÁCSEI ATTILA², NÉMETH TIBOR², SEPRÉNYI GYÖRGY³, MÁNDI YVETTE¹

¹Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék, Szeged

³Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Biológiai Intézet, Szeged

Bevezetés. Az opportunistá patogén sarjadzó gombák képesek a gazdaszervezet immunválaszát befolyásolni azáltal, hogy természetes antimikrobiális peptidek, a defenzinek termelődését indukálják. Célunk az *in vitro* *Candida albicans*-, *C. krusei*-, *C. tropicalis*- és *C. parapsilosis*-fertőzés hatásának vizsgálata a humán béta-defenzin-2 (HBD2) termelődésére Caco-2 intestinalis epithel eredetű sejteken, illetve az alfa-defenzin (human neutrophil peptide, HNP1-3) felszabadulásra perifériás vérben.

Módszerek. A szekretált HBD2-szintet ELISA kit segítségével határoztuk meg a sejtkultúrák felülszóiban, a sejten belüli peptidet Western-blot-analízissel és immunfluoreszcens festéssel vizsgáltuk. Az indukibilis HBD2 mRNS relatív expresszióját valós idejű kvantitatív PCR-rel határoztuk meg. A candida fajokkal indukált perifériás vérben ELISA-val detektáltuk a HNP1-3-at.

Eredmények. A HBD2 mRNS expressziója fokozódott Caco-2 sejtekben candidafertőzés hatására, legnagyobb mértékben a *C. albicans*-t követően. Hasonlóképpen, a HBD2 peptid

szelekció szignifikánsan magasabb volt az in vitro *C. albicans*-fertőzés hatására ($13,5 \pm 5$ pg/ml), mint a *C. krusei*-, a *C. tropicalis*- vagy a *C. parapsilosis*-fertőzést követően. A legnagyobb intracelluláris HBD2-mennyiséget szintén a *C. albicans*-szal fertőzött sejtekben mértünk Western-blottal, illetve immunfluoreszcens festéssel. Mind a *C. albicans*-, mind a *C. parapsilosis*-fertőzés szignifikánsan nagyobb mennyiségű HNP1-3 peptid szelekciót eredményezett perifériás vérben, összehasonlítva a *Staphylococcus aureus*-szal történő in vitro fertőzés eredményével (600 ± 50 ng/ml, 300 ± 25 ng/ml vs. 150 ± 25 ng/ml).

Következtetések. Vizsgálataink bizonyíthatják az intestina-
lis epithelsejtek kiemelt szerepét a candidainfekciók elleni antifungális védelemben. A candidafertőzések szintén központi szerepet játszhatnak a neutrofil granulocyták alfa-defenzin szelekciójának kiváltásában.

JOB-E EGY TERÁPIÁS ANTITEST, MINT KETTŐ? A TRASTUZUMAB-PERTUZUMAB KOMBINÁCIÓ ELSŐSORBAN ADCC-N KERESZTÜL FEJTI KI SZINERGISZTIKUS HATÁSÁT

TÓTH GÁBOR, SIMON LÁSZLÓ, SZÖLLŐSI JÁNOS, VEREB GYÖRGY

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum,
Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

Bevezetés. A trastuzumab olyan, tumorterápiában alkalmazott ErbB2 célpontú humanizált monoklonális antitest, melyre egyszerre jellemző a terápiás siker és a magas rezisztenciaarány. Míg a trastuzumab az ErbB2 leszállóvezetést fokozza, egy másik antitest, a pertuzumab az ErbB2 dimerizációs karjához kötődve annak heterodimerizációját gátolja. Állatkísérletek alapján kombinációjuk javíthatja a kezelés kimenetelét, akár molekuláris szintű folyamatok miatt (pl. hiperkezesztetés alapú ErbB2 internalizáció fokozódás), akár szterikus komplementer kötőhelyeket kínálva NK-sejtek számára az ADCC folyamatában. Ezen biológiai utak elkülönítésére nyílt mód az antitestek Fc-rész nélküli, $F(ab)_2$ fragmentumainak vizsgálatával.

Anyagok és módszerek. A kísérletek első fázisában létrehoztuk ezeket a fragmenteket, és összehasonlítást végeztünk intakt párjaikkal in vitro. A trastuzumab és pertuzumab $F(ab)_2$ -t pepszin-agaróz emésztéssel és gélszűrőssel nyertük. Az antitestek kötőképességét és az Fc-rész hiányát immunfluoreszcens jelöléssel áramlási citométeren vizsgáltuk. Az EC50 értékeket in vitro MTT-alapú proliferációs kísérletekben határoztuk meg. Az ADCC vizsgálatát frissen izolált humán mononukleáris sejtekkel, valós idejű sejtadhéziós esszével végeztük. Ezután az antitestek és kombinációik SCID egérbe subcutan inoculált xenograft emlőtumorok növekedésére gyakorolt hatását vizsgáltuk.

Eredmények. Mivel a protein A és protein G a várakozás-

sal ellentétben a $F(ab)_2$ -t is megkötötték, méretre és ion-erősségre optimalizált gélkromatográfiát használtunk a megfelelő méretű fragmentumok szeparálására. Az Fc-rész hiányát poliklonális anti-Fc immunfluoreszcenciás jelöléssel igazoltuk. Az Fc-régió hiánya nem befolyásolta jelentősen az antitestek önálló in vitro hatását sem a szenzitív BT-474, sem a rezisztens JIMT-1-sejtek proliferációjára. Az egyetlen mérhető különbség a pertuzumab $F(ab)_2$ -nek a teljes antitesthez képest kissé megnövekedett ErbB1-ErbB2 dimerizációt gátló képessége volt, mely a csökkent EC50-értékben is visszatükröződött. Az in vitro proliferáció gátlás izoból görbéi alapján a két antitest kombinációja additív hatásúnak tűnt mind a teljes antitestek, mind az $F(ab)_2$ esetében. Az ADCC alapú ölési kísérletben az $F(ab)_2$ nem fejtett ki hatást, míg a teljes antitestek mediálták az ölést. In vivo az $F(ab)_2$ fragmentumok nem csökkentették a JIMT-1-tumorok növekedését, az egész antitestek önállóan alkalmazva egyformán hatékonyak bizonyultak, kombinációjuk pedig erős szinergizmust mutatott.

Következtetés. Eddigi kísérleteink azt támasztják alá, hogy az in vitro szinergizmus hiánya ellenére a trastuzumab és pertuzumab kombinációja in vivo szinergisztikusan fokozza az ADCC-t, ami kombinációs humán terápia hatékonyságának is alapja lehet, még in vitro rezisztenciát mutató daganatok esetén is.

HUMÁN T-SEJT-EREDETŰ C3-FRAGMENTUMOK HATÁSA A T-LYMPHOCYTÁK AKTIVÁCIÓJÁRA

TÖRÖK KATALIN¹, KREMLITZKA MARIANN², SÁNDOR NOÉMI¹,
TÓTH ESZTER ANGÉLA², BAJTAY ZSUZSA^{1,2}, ERDEI ANNA^{1,2}

¹MTA Immunológiai Kutatócsoport, Eötvös Loránd
Tudományegyetem, Budapest

²Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék,
Budapest

Napjainkban egyre több kutatás foglalkozik a komplementrendszer elemeinek a T-sejtek aktivációs folyamataira kifejtett szabályozó hatásának vizsgálatával. A komplementrendszer központi fehérjéje, a C3 hasításával keletkező aktivációs fragmentumok lymphocytákra kifejtett szabályozó szerepét azonban elsősorban állatmodellek felhasználásával tanulmányozzák, és kizárólag a C3a anafilatoxikus peptid hatását vizsgálják. Célunk annak tisztázása, hogy a humán T-lymphocyták valóban termelnek-e C3 fehérjét, és ha igen, az milyen hatást gyakorol a T-sejtek aktivációs folyamataira antiprezentáció során.

Kísérleteinkhez humán vérből, illetve mandulából MACS módszerrel, vagy áramlási citofluorimetriás szortírozással frissen izolált, illetve 3 napig anti-CD3-mal aktivált T-sejteket használtunk. A lokális C3-termelést mRNS-szinten RT-PCR-rel, valamint fehérjeszinten áramlási citofluorimetriával és im-

munprecipitációval vizsgáltuk. A T-sejt-eredetű C3 proliferációra kifejtett hatását allogén antigénprezentációs rendszerben követtük, ahol előzetesen aktivált T-sejteket, valamint monocytából differenciáltatott, LPS-sel kezelt dendritikus sejteket (DC) használtunk. A T-sejt-proliferációt H3-timidin beépüléssel vizsgáltuk. A kontroll mintákhoz poliklonális anti-C3 F(ab')₂-t, anti-iC3b-t és egy ligandumkötőhely-specifikus anti-CR3 ellenanyagot adtunk a sejtek előzetes aktiválását követően.

Kimutattuk, hogy az aktivált humán T-sejtek mRNS- és fehérjeszinten egyaránt kifejezik a C3-at. Egy iC3b neoepitópot felismerő monoklonális ellenanyagot alkalmazva mind áramlási citofluorimetriával, mind sejtfelszíni biotinilálást követő immunprecipitációval kimutattuk, hogy a lokálisan termelődő C3 visszakötődik a sejtfelszínre. Allogén antigénprezentációs kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy az aktivált T-sejtek felszínére kötődött T-sejt-eredetű iC3b a CR3, továbbá valószínűleg a CR4 receptorokon keresztül kapcsolódik a DC-khez, amelynek hatására a T-sejtek proliferációja erősen fokozódik.

Kísérleteink arra utalnak, hogy aktiváció hatására a humán T-sejtek által termelt C3 jelentősen befolyásolja a T-sejtek aktivációs folyamatait, és pozitív kostimulátorként hat.

NANOGYÓGYSZEREK, NANOHORDOZÓK PSZEUDOALLERGIÁS MELLÉKHATÁSÁNAK (CARPA) IN VIVO IMMUNOTOXIKOLÓGIAI TESZTELÉSE

URBANICS RUDOLF¹, BEDŐCS PÉTER², ROSIVALL LÁSZLÓ³, SZEBENI JÁNOS^{1,4}

¹SeroScience Kft. Budapest

²Uniformed Services University of Health Sciences, Bethesda, MD, USA

³Semmelweis Egyetem, Kórélettani Intézet, Budapest

⁴Semmelweis Egyetem Nanomedicina Oktatási és Kutatási Központ

Bevezetés. A nanotechnológia új terápiás és diagnosztikus eszközök sokaságát állítja elő, melyek jobb kinetikai paramétereket, kisebb toxicitást, célzott bejutást, jobb hatásfokot biztosítanak, ugyanakkor új típusú mellékhatásokat válthatnak ki. A nanomedicinának és diagnosztikumok mérete az 50-100 nm-es tartományban van, és az immunrendszer ezeket mint idegen anyagokat felismeri, és ellenük immunválaszt indíthat. Intravénás alkalmazás esetén viszonylag gyakran léphet fel pseudoallergiás reakció. Az így kiváltott akut immunválasz, a hiperszenzitivitási reakció a komplementrendszer aktiválásával jár, és az irodalomban az angol rövidítés egyre ismertebb (C activation-related pseudoallergy – CARPA). A CARPA-reakció emlékeztet az Ig-E-mediált anafilaktoid reakcióra, de nem vesz részt benne az Ig-E, a reakció az első applikációkor a legerősebb, gyorsan, egy percen belül jelentkezik, dóziszfüggő, és rendszerint spontán helyreáll a fiziológiás állapot.

A reakció előfordulása gyakori (2–40%), és fatális kimenetele is lehet. A reakcióra különösen érzékeny a sertés, anafilaktoid reakciója megegyezik a legérzékenyebb emberek reagálásával.

Módszerek. A nanoanyagok in vivo tesztelését 20–30 kg-os altatott házi sertéseken végeztük. Folyamatosan regisztráltuk az arteria pulmonalis (PAP) és a szisztémás artériás nyomást (SAP), az EKG-t és a kilégzett CO₂-t, és a reakciók során mintákat vettünk a vérszámváltozás, komplementaktivációs termékek és tromboxán meghatározására. A tesztanyagokat a vena jugularisba bolusban vagy infúzióban adtuk be.

Eredmények. Az általunk eddig vizsgált, CARPA-reakciót kiváltó nanoanyagok közül a forgalomban lévő liposzomális Doxil és Ambisome, valamint micelláris típusú gyógyszer, Taxol nagyon hasonló reakciókat váltott ki. Mennyiségi különbségek vannak az egyes anyagok által kiváltott reakciókban, pl. Doxil esetén a PAP-emelkedés dominál, Ambisome beadását követően a SAP-csökkenés is nagyon jelentős, és gyakran jár EKG-eltérésekkel is. Polimerek és más gyógyszerhordozók, dendrimerek, karbon nanocsövek, arany nanopartikulumok és PEG-ilált polikationok is nagyon hasonló reakciókat váltanak ki. A felszíni töltések megváltoztatása, és a hordozók funkcionálizálása jelentősen változtathatja ezen anyagok CARPA-kiváltó sajátosságait.

Következtetések. A nanomedicinális anyagok előnyös tulajdonságai mellett egy új immuntoxikológiai sajátosságot is hordoz(hat)nak, amelynek detektálása a biztonságfarmakológia fontos eleme lesz a jövőben. Az érzékeny malac modell e pseudoallergiás jelenség kiváló jelzője, és nagyon különböző típusú nanoanyagok esetén is megbízható eszköz.

A munka részben a NFÜ/MAG Zrt: „TECH-08-D1-2008-0030” „NANOMEDI” pályázat támogatásával készült.

A RITUXIMABTERÁPIA HOSSZÚ TÁVÚ HATÁSA A B-SEJT-SZÁMRA ÉS AUTOANTITEST-TERMELÉSRE RHEUMATOID ARTHRITISBEN: MAGAS SZENZITIVITÁSÚ ÁRAMLÁSI CITOMETRIA A B-SEJT-DEPLÉCIÓ MÉG SZENZITÍVEBB MEGHATÁROZÁSÁRA

VÁNCSA ANDREA, SZAMOSI SZILVIA, BODNÁR NÓRA, SZÜCS GABRIELLA, SZÁNTÓ SÁNDOR, GERGELY LAJOS, SZEKANECZ ZOLTÁN

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Reumatológia Tanszék, Debrecen

Célkitűzés. Az anti-CD20 antitest (rituximab) terápia B-lymphocytá-depléciót okoz rheumatoid arthritisben (RA), habár a rituximabterápiára adott klinikai válasz különbözik az egyes betegekben. Jelen vizsgálatunkban a hosszú távú RTX-terápia hatékonyságát és biztonságosságát elemeztük betegeinkben, tanulmányoztuk a korrelációt a B-sejt-depléció, klinikai válasz és autoantitest-termelés között.

Betegek és módszerek. 77 aktív rheumatoid arthritisben szenvedő beteg (férfi : nő arány 12 : 65) részesült két alkalommal 1000 mg-os rituximab infúzióban két hét különbséggel a 0. és 15. napon, majd hathavonta fix protokoll szerint a klinikai válasz mértékétől függetlenül. Az összes beteg legalább 5 ciklus RTX-terápiában részesült, akik betegsége klinikailag aktív volt (DAS28 >5,1) a konvencionális DMARD-terápia és legalább egy anti-TNF α szerre elégtelen klinikai válasz esetén. Meghatároztuk a DAS28 értékeket, az IgM rheumatoid faktor (RF) és anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antitest szinteket induláskor, a terápia 15. napján, majd 6 havonta 24 hónapig. A klinikai válaszokat az EULAR válasznak megfelelően rögzítettük. Detektáltuk az abszolút CD19+ B-lymphocytá-számot 50 beteg perifériás vérében magas szenzitivitású áramlási citometriás vizsgálattal (hsFACS). Komplet depléciót véleményeztünk abban az esetben, ha az abszolút B-sejt-szám <0,0001 G/l volt. A mellékhatásokat is rögzítettük a terápia, illetve 48 hónapos utánkövetés során.

Eredmények. A betegek egy kezdeti és legalább 4 ciklus rituximabterápiában részesültek. A terápia kezdete után 6, 12, 18 és 24 hónappal a betegek 51,6, 51,9, 73,3 és 83,8%-a mutatott jó EULAR-választ. Szignifikáns és tartós csökkenés következett be az IgM-RF és anti-CCP antitest szintekben 6 és 12 hónappal a terápia kezdete után. A CD19+ B-sejt-számot mértük a perifériás vérben a terápia kezdete előtt minden beteg esetén. A kiindulási átlagos abszolút B-sejt-szám 0,234 G/l volt. A B-sejtek száma szignifikánsan csökkent az első infúzió után a 15. napon (0,104 G/l; $p = 0,007$), mely tovább csökkent a 24. hónapban (0,0013 g/l; $p < 0,001$). Már egy rituximab infúzió inkomplett depléciót eredményezett a betegek 76,7%-ában. Hat, 12, 18 és 24 hónappal az első infúzió után a betegek 75,7%, 70,8%, 56,5% és 50,0%-ának a perifériás vérében volt detektálható CD19+ B-sejt ($\geq 0,0001$ G/l). A CD19+ B-sejt-szám pozitívan korrelált a DAS28-értékekkel ($r = 0,964$; $p < 0,001$), az IgM-RF ($r = 0,955$; $p < 0,001$) és anti-CCP antitest szintekkel ($r = 0,755$; $p < 0,01$). A DAS28-értékek csökkenése szintén pozitív korrelációt mutatott az alacsony IgM-RF ($r = 0,979$; $p < 0,001$) és anti-CCP antitest értékekkel ($r = 0,903$; $p < 0,001$). Szignifikáns mellékhatás nem fordult elő.

Következtetések. Rheumatoid arthritisben a RTX-ra adott klinikai válasz korrelált a B-sejt-depléció mértékével, illetve az autoantitest-termeléssel is. hsFACS hasznos módszer lehet az inkomplett B-sejt-depléció, a minimális reziduális betegség még pontosabb meghatározására akár az onkohematológiában.

A HEADCASE SZEREPE A DROSOPHILA VÉRSEJT-DIFFERENCIÁLÓDÁSA SORÁN

VARGA GERGELY ISTVÁN¹, HONTI VIKTOR¹, CSORDÁS GÁBOR¹, MÁRKUS RÓBERT¹, LUKACSOVICH TAMÁS², KURUCZ ÉVA¹, ANDÓ ISVÁN¹

¹MTA Szegedi Biológiai Központ Genetikai Intézet, Immunológiai Csoport, Szeged

²Developmental Biology Center, UCLA, Irvine, USA

Az ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) vérsejtjei, a hemociták, az emlősök vérsejtjeihez hasonlóan több hullámban keletkeznek, és egymástól elkülönült kompartmentumokban helyezkednek el. Differenciálódásukat evolúciósan konzervált transzkripció és epigenetikus faktorok szabályozzák. A laboratóriumunkban előállított in vivo sejtvonalljelölő rendszer alkalmazásával térképeztük az egyes vérsejttípusok és -kompartmentumok leszármazási vonalait. A lárv hemocitái három kompartmentumban helyezkednek el: a szesszilis szövetben, a keringésben és a központi nyirokszervben. Sejtvonalljelöléses vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy a központi nyirokszerv a többi kompartmentumtól elkülönülten fejlődik, azonban az immunindukció hatására keletkező effektorsejtek képzésében mindhárom kompartmentum részt vesz. Vizsgálatainkból az is kiderült, hogy a sejtvonalak is nagyfokú plaszticitással rendelkeznek: a terminálisan differenciálódottak vélt fagociták, a plazmatociták az immunindukció hatására tokképző lamellocitákká alakulnak. Kísérleteinkben a kompartmentumok és a sejtvonalak együttműködésének és plaszticitásának molekuláris hátterét kívánjuk tisztázni. Ehhez vérsejtspecifikus meghajtóelemek segítségével ismert, a differenciálódást szabályozó faktorok génjeit csendesítjük, illetve fejeztetjük ki az egyes vérsejtképző szövetekben és vérsejttípusokban. A szabályozó faktorok egyike, a Headcase, a lárv imaginális szöveteiben aktív, és gátolja ezen szövetek sejtjeinek korai differenciálódását. A hdc gén kifejeződik a lárv központi nyirokszervében is, azonban immunindukció hatására a nyirokszervből a keringésbe kerülő és differenciálódó vérsejtekben a hdc-aktivitás megszűnik. A hdc gén aktivitásának követésére hdc-GAL4 meghajtóelemet hordozó vonalakat hoztunk létre. A hdc gén szerepének tisztázására vérsejtspecifikus meghajtóelemeket és UAS-hdcRNSi konstrukciót alkalmazva csendesítettük a gént az egyes vérsejt-kompartmentumokban. A hdc gén csendesítése nem befolyásolta a lamellociták differenciálódását, azonban az érett plazmatociták száma mindhárom vérsejt-kompartmentumban erősen csökkent, annak ellenére, hogy a hdc a szesszilis szövetben nem fejeződik ki. Mindez fölveti annak lehetőségét, hogy a hdc gén egyes szövetekben sejtautonóm, más szövetekben pedig nem sejtautonóm módon szabályozza a vérsejtek differenciálódását. Ezért olyan transzgenikus konstrukciókat hoztunk létre, melyek segítségével a szesszilis szövet a genetikai meghajtóelemektől függetlenül in vivo kije-

lölhető. Ezáltal nemcsak a hdc szeszilis szövetben betöltött szerepe tisztázható, hanem a kompartmentumok sejtautóm-nem sejtautóm szabályozásának kérdéseire is választ kaphatunk.

A TUMORANTIGÉNÉK MEMBRÁNTOPOLOGIÁJA ÉS MOBILITÁSA MEGHATÁROZZA AZ ÚJRAPPROGRAMOZOTT T-SEJTEK DAGANATPUSZTÍTÓ KÉPESSÉGÉT

VEREB GYÖRGY¹, SZÖÖR ÁRPÁD¹, RUSZNÁK PÉTER¹, HINRICH ABKEN², SZÖLLŐSI JÁNOS¹

¹Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

²Kölni Egyetem Immunológiai Intézet, Köln

Bévezetés. A kiméra antigénreceptorral (CAR) transzfektált citotoxikus T-sejtek új lehetőséget jelentenek a daganatkezelésben. A melanomasejteken kifejezett p97 és HMW-MAA ellen irányított T-sejtek lényegesen nagyobb ölképességet mutatnak a p97 esetén, annak ellenére, hogy mindkét CAR azonos affinitású, és az antigénexpresszió is hasonló mértékű. Munkánk során azt vizsgáltuk élő melanomasejteken, hogy a két antigénen keresztül kifejtett ölkhatás eltérő volta kapcsolódik-e azok eltérő membránbeli szerveződéséhez.

Anyagok és módszerek. A sejtfelszíni antigéneket és lipidtutajokat fluoreszcenciás jelölést követően konfokális mikroszkóppal és fluoreszcencia korrelációs spektroszkópiával vizsgáltuk. A mobilizálás módosítására metil-béta-ciklodextrinnel (MBCD) membránkoleszterint vontunk ki, ennek életképességre gyakorolt hatását Annexin V és PI jelöléssel, áramlási citométerrel vizsgáltuk. A T-sejt-aktivációt a CD107a-expreszió alapján ítéltük meg.

Eredmények. Méréseink szerint a p97 280 nm vagy kisebb átmérőjű klaszterekben szerveződik és 44 ± 22 ms diffúziós korrelációs időt mutat, valamint egy 1–3 s nagyságrendű komponens is kimutatható esetében, mely valószínűleg a kis csoportok együttes diffúziójából ered. A HMW-MAA szigetei 738 ± 85 nm méretűek, és keresztkorrelációs koeficiense alapján ($C = 0,46 \pm 0,06$) jelentősen átfed a lipidtutajokkal. A szigetekben belül diffúziója a p97-hez képest lassabb (korrelációs idő 124 ± 42 ms). A két antigén átfedése és kodiffúziója keresztkorrelációs spektroszkópiával sem mutatható ki. Az immunszinapszis képződését valós időben vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a p97 célpontú lymphocyták kapcsolódást követően stabil szinapszist képeztek, viszont a HMW-MAA célpontúak, bár a célsejttel való találkozáskor kváziazonos gyorsasággal szinapszisba rendezték receptorait, szinapszisaik stabilitása gyengébb volt, és a sejt-sejt kapcsolat rövid idő alatt felbomlott. A koleszterinkivonás 5 mM MBCD koncentráció és 30 perc inkubációs idő felett citolízishez vezet, de az ép sejtek életképességét a kontrollhoz képest nem be-

folyásolja lényegesen. Ugyanakkor a HMW-MAA lipidtutajbeli lokalizációját csökkenti ($C = 0,24 \pm 0,09$), és egymásodperces nagyságrendű diffúziós komponens megjelenését eredményezi, amely mögött állhatnak kisebb HMW-MAA aggregátumok. Ezzel összhangban a célsejtek MBCD-kezelése javította a HMW-MAA célpontú lymphocyták aktivációját.

Következtetés. A p97 kisebb, mobilisabb, lipidtutajoktól független klaszterei és/vagy az azokon belüli gyorsabb diffúzió elősegítheti annak stabil immunszinapszisba való gyűjtését, és rajta keresztül az ölkés beindítását, míg a HMW-MAA alacsonyabb mobilitása és kötöttsége a raft doménekhez gátolja mindezt. A jelenség általánosítható, mert lipidtutajban lokalizálódott fAChR-t, és mobilisabb CEA-t kifejező rhabdomyosarcoma ezen membránfehérjéi ellen programozott T-sejtek közül a CEA-hoz kötődők mutatnak hatékonyabb citotoxicitást.

A KOMPLEMENTRENDSZER VIZSGÁLATA NEUROMYELITIS OPTICÁBAN

VESZELI NÓRA¹, FÜST GYÖRGY¹, CSUKA DOROTTYA¹, TRAUNINGER ANITA², RÓZSA CSILLA³, NAGY ZSUZSANNA⁴, JOBBÁGY ZITA⁵, EIZLER KORNÉLIA⁶, PROHÁSZKA ZOLTÁN¹, VARGA LILIAN¹, ILLÉS ZSOLT²

¹Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest,

²Pécsi Orvostudományi Egyetem, Neurológiai Klinika, Pécs,

³Jahn Ferenc Dél-Pesti Kórház, Neurológiai Osztály, Budapest,

⁴Markusovszky Kórház, Neurológiai Osztály, Szombathely,

⁵Megyei Kórház, Neurológiai Osztály, Kecskemét,

⁶Szent György Megyei Kórház, Neurológiai Osztály, Székesfehérvár

A neuromyelitis optica (NMO) a központi idegrendszer autoimmun betegsége, melyet a látóideg és a gerincvelő gyulladása jellemez. A betegséget a központi idegrendszer fő vízcsatornája, az aquaporin-4 ellen termelődő ellenanyagok közvetítik. Patológiai jelei a lokális IgG-lerakódás és komplementaktiváció. A komplementrendszerre vonatkozó adatok NMO-ban igen szegényesek, a komplementrendszer részletes tanulmányozására eddig még nem került sor.

A komplementvizsgálatokat 28 NMO-s páciensben [37 (30–51) évesek, 88%-uk nő] végeztük el, összehasonlítva az eredményeket 113 egészséges egyénben kapott eredménnyel [35 (30–43) évesek, 57%-uk nő].

A komplementútvonatok összkomplement-aktivitását szérumban mértük hemolitikus titrálassal a klasszikus útvonal esetén, és Wi-ELISA-val a lektinfüggő útvonal esetén. A C3-szinteket turbidimetriával, míg a C4, B-faktor, I-faktor és a C1-inhibitor koncentrációit radiális immundiffúzióval mértük. A plazma C1rC1sC1-inh, C3bBbP és C5b-9 komplementaktivációs termékek szintjeit házi ELISA-rendszerrel határoztuk meg.

A szérumban C3- és I-faktor-szintjei szignifikánsan alacsonyabbak az NMO-s betegekben, mint a kontrollokból ($p = 0,0006$ és $p = 0,0033$), és hasonló tendenciát mutat a B-faktor koncentrációja is ($p = 0,091$). Érdekes azonban, hogy az alternatív összkomplement-aktivitás nem különbözött a kontrolloktól. A C4- és a C1-inhibitor-szintekben sem volt különbség a két csoport között. A klasszikus és az MBL-függő lektin út aktivitása szignifikánsan magasabb a betegekben, mint a kontrollokból ($p = 0,0059$ és $p = 0,0044$). A betegek EDTA plazmamintáinak komplementaktivációs termékeinek szintjében nem találtunk szignifikáns emelkedést.

Bár az alternatív útvonal komponenseinek szintje az egészségesekhez képest csökkent, ennek ellenére eredményeink szerint NMO-betegségben komplementaktiváció nem zajlik szisztemásan.

A FOKOZOTT TRAF6-EXPRESSZIÓ GÁTLÁSA EBER1-SPECIFIKUS DNS-SZEKVENCIAVAL SJÖGREN-SZINDRÓMÁS BETEGEK MONONUKLEÁRIS SEJTJEIBŐL

ZILAH ERIKA¹, SIPKA SÁNDOR¹, KÓNYA JÓZSEF², PAPP GÁBOR¹, SZÁNTÓ ANTÓNIA¹, ZEHER MARGIT¹

¹Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Belgyógyászati Intézet, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Klinikai Immunológiai Tanszék

²Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Mikrobiológiai Intézet

Előzmények. Korábbi vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a Sjögren-szindrómás betegek mononukleáris sejtjeiben a fokozott mikroRNS-146a-szint mellett, meglepő módon, fokozott TRAF6 gén expresszió figyelhető meg.

Vizsgálati cél. Jelen munkánkban azt vizsgáltuk, hogy

- a) fokozott TRAF6-expresszió egy év után is megfigyelhető-e a Sjögren-es betegek mononukleáris sejtjeiben;

- b) a TLR3-agonista poly(I:C), továbbá az EBV-eredetű EBER1 RNS komplementer DNS-szakasza befolyásolja-e a TRAF6-expressziót sjögrenes betegek mononukleáris sejtjeiben in vitro.

Anyagok és módszerek. A Sjögren-szindrómás betegek és egészséges kontrollok mononukleáris sejtjeit 24 órán keresztül kezeltük poly(I:C)-vel és EBER1-specifikus komplementer DNS-fragmentummal in vitro. A TRAF6 gén expressziós szintek relatív mennyiségi meghatározása valós-idejű PCR módszerrel, TaqMan próbák alkalmazásával történt. A vizsgálati eredmények statisztikai feldolgozására SPSS 15.0 szoftvert és t-próbát alkalmaztunk.

Eredmények.

- a) 8 Sjögren-szindrómás beteg esetében a 2011-ben és a 2012-ben ismételt elvégzett TRAF6-expressziós vizsgálatok értékei nem mutattak változást.
- b) Egészségesekben a poly(I:C) 24%-os, szignifikáns, míg az EBER1-specifikus DNS 10%-os, nem szignifikáns emelkedést okozott a TRAF6 gén expressziójában.
- c) A Sjögren-szindrómás betegekben az EBER1-specifikus DNS 35%-os, szignifikáns csökkenést okozott a TRAF6 gén expressziójában, míg a poly(I:C) hatástalan volt.

Következtetések.

1. A fokozott TRAF6-expresszió változatlan formában fennáll a Sjögren-szindrómás betegek mononukleáris sejtjeiben az egyéves utóvizsgálat során is.
2. A fokozott TRAF6-expresszióban a TLR3 út aktivációja a Sjögren-szindrómás betegekben nem látszik döntő jelentőségűnek, mivel a poly(I:C)-kezelés nem befolyásolja azt.
3. Az EBER1-specifikus DNS TRAF6-expressziót gátló hatása a Sjögren-szindrómás betegek mononukleáris sejtjeiben az EBV-hez kapcsolható EBER1 RNS valamilyen hatásával hozható összefüggésbe, minek vizsgálata folyamatban van.

2013. január 24–26.

Budapesti Immunológiai Fórum (BIF3)
Danubius Hotel Flamenco, Budapest

Az előadások elsősorban a gyakorló klinikusok számára kívánnak a mindennapokban is hasznos ismereteket nyújtani. Kiemelt témák: alapvető fontosságú immunbiológiai folyamatok áttekintése, fertőzések immunológiája, az osteoporosis immunológiája, genetikai és immunlabor-vizsgálatok értékelése. Szakmapolitikai fórum a biológiai terápiák finanszírozásáról.

Szakmai információ:

Dr. Nagy György

Semmelweis Egyetem, III. Belgyógyászati Klinika,

I. Reumatológiai Tanszéki Csoport, Budapest.

E-mail: gyorgyngy@gmail.com.

Telefon: 30 231 3344

A Fórum teljes körű technikai szervezője és kivitelezője:

New Congress Hungary Kft.

Szervező: Csonkáné Czibolya Éva

Szervező Iroda 3014 Hort, Határ út 18.

Levelezési cím: 3014 Hort, Pf.: 18.

Telefon/fax: +36 37 378 539 (üzenetrögzítő)

Mobil: +36 20 227 7106

E-mail: nch@newcongress.hu, info@newcongress.hu

Honlap: www.newcongress.hu/BIF3

Dr. Füst György

1937. november 14. – 2012. július 5.

Füst György professzor úr halálával pótolhatatlan veszteség érte a hazai és határon túli immunológusok közösségét. Pályafutása során többször és több helyen teremtett maga körül olyan szellemi és fizikai atmoszférát, amelynek haszna és kisugárzása folyamatosan érzékelhető volt és sokáig az is marad. Nem csupán iskolát teremtett, hanem emberségével, őszinte becsületességével és lelkesedésével tanított, hosszú időre és alapjaiban meghatározva sokak kutatóvá válását. Tanítványai örökké hiányolni fogják bölcs tanácsait, lényegre koncentráló javaslatait és szelíd, sokszor szellemes útmutatásait.

Füst György Budapesten született 1937. november 14-én, a budapesti Kölcsey Gimnáziumban érettségizett 1956-ban, és 1962-ben szerzett általános orvosi diplomát a Budapesti Orvostudományi Egyetemen. Első munkahelye az Országos Közegészségügyi Intézet szerológiai osztálya volt, itt alakult ki első kapcsolata a humorális immunitás kutatásával és a kutatási eredmények gyakorlati alkalmazásával. Kutatói munkásságának kezdetén végigkísérte a komplementrendszer részletes felismerésének lépéseit, és az új ismereteket folyamatosan átültette a gyakorlati alkalmazás területére: számos tudományos kollaborációban vett részt ezen a területen, és diagnosztikai alkalmazásokat is fejlesztett. Ehhez a szakterülethez teljes pályafutása során hű maradt, így igazán itt mutatkozik meg iskolateremtő teljesítménye.

A későbbiekre nézve döntő hatásának bizonyult együttműködése Gergely János professzor úrral a hetvenes évek elején. Gergely professzor úr 1973-ban felkérést kapott az ELTE Immunológiai Tanszékének megszervezésére, így az Országos Haematológiai és Vértranszfúziós Intézet Immunkémiai Osztályát félig elhagyva, azonban annak további működéséről gondoskodva, Füst Györgyöt meghívta az Immunkémiai Osztály munkatársai közé. Igen termékeny, jó hangulatú, és a jövőt megalapozó éveket töltöttek munkatársaikkal együtt ebben az időben. Füst professzor úr 1974 és 1995 között dolgozott az Országos Haematológiai, Vértranszfúziós és Immunológiai Intézetben (OHVII), kezdetben mint tudományos főmunkatárs, később mint az Immunológiai Osztály vezetője.

A lényeges, az utókor számára is meghatározó jelentőségű alkotásai között talán az első az volt, hogy a hetvenes években nemzetközi viszonylatban is úttörő módon teremtette meg a komplementrendszer diagnosztikai vizsgálatának feltételeit Magyarországon. Önálló vizsgálati eljárásokat dolgozott ki vagy adaptált nemzetközi példák alapján. Neki köszönhető, hogy hazánkban nemzetközi viszonylatban elsők között nyílt lehetőség a hereditær angiooedema (HANO) diagnosztizálására, mely terület mindvégig szívügye maradt.

1987-ben megírta az első magyar nyelvű komplementdiagnosztikai szakkönyvet, és folyamatosan energiát áldozott a komplementrendszer jellegzetességeinek megismertetésére, továbbképzésre és oktatásra. Több tanítványa (Varga Lilian, Hidvégi Tünde, Schmidt Béla, Prohászka Zoltán) is folytatta-folytatja a komplementdiagnosztikai fejlesztéseket, és alkalmazzák ma is az eljárásokat. Integrálta a magyarországi komplementkutatást a nemzetközi élvonalba, melyet jól jelez, hogy az általa 1986-ban Balatonfüreden elindított „Role of Complement in Human Diseases” konferenciasorozat 2011-ben immáron 13-adszor került megrendezésre, erre volt talán a legbüszkébb.

Az 1980-as években a kor kihívásainak megfelelően Magyarországról az elsők között kezdett a HIV/AIDS problémakörrel, azon belül főként diagnosztikai kérdésekkel foglalkozni. Az OHVII-ben megalapította a HIV-diagnosztikai laboratóriumot, amelynek bázisán alakult meg később a Vérellátó Szolgálat HIV-verifikációs Laboratóriuma. Elsőként vett részt klinikus és mikrobiológus kollégákkal magyar nyelvű HIV-témájú könyv megírásában, felelőségével szerkesztett és adott ki ismeretterjesztő folyóiratot (AIDS Híradó) a témakörben. Tanítványai (Ujhelyi Eszter, Tarján Veronika) mind a mai napig a HIV-diagnosztika területén tevékenykednek. 1985 és 1995 között több cikluson keresztül a Nemzeti AIDS Bizottság (NAB, korábban Szakmai AIDS Bizottság) titkára volt, rengeteg energiát és szabadidőt áldozva a feladattal járó kötelezettségeknek. A NAB szerepe elvitathatatlan a mai kedvező HIV/AIDS járványügyi helyzet létrehozásában, az akkori erőfeszítéseknek és az erőforrások átgondolt elosztásának mind a mai napig érezhető hatásai vannak. Az OHVII-ben is megmutatkozott már tudományos iskolateremtő képessége, amit jelez a vezetésével ott készült kandidatúrák és doktori munkák magas száma (7 kandidatúra, 2 doktori munka).

A felsőoktatásban 1995 után kezdett intenzíven tevékenykedni, amikor elvállalta a III. Sz. Belgyógyászati Klinika Kutatólaboratóriumának vezetését Romics László professzor úr meghívására. Kutatási témái aktuális népegészségügyi kérdésekhez és modern, nemzetközi összehasonlításban is kiemelkedő kérdésfeltevésekhez kapcsolódtak. Helyes témaválasztással és következetes tudmányszervezői munkával biztosította, hogy a kutatólaboratóriumban eltöltött 17 év alatt 15 PhD hallgató fejezte be munkáját és szerzett fokozatot, két munkatársa az MTA doktora fokozatot is megszerezte. Rendkívüli hatékonysággal és az új kihívásoknak megfelelően alkalmazkodott az egyetemi környezethez. A kor szavát megértve használni, kutatni majd tanítani kezdett egyes genetikai módszereket, internetes genomikai erőforrásokat és az ezekhez kapcsolódó biostatistikai és bioinformatikai le-

hetőségeket. Önálló biostatistikai kurzust szervezett és folyamatosan hangsúlyt fektetett munkatársai képzésére, a kutatás pontos megtervezésének átadására és az eredmények megfelelő értékelésére. Kutatómunkája során Füst György mindig szem előtt tartotta az együttműködések. Egy vele készült riportban a következőket mondta: „Általában szomorúan jöttem el a magyar, de a nemzetközi konferenciákról is, ha nem állapodtam meg senkivel sem kollaborációban”. Szinte az összes lényeges eredményét sikeres csapat életre hívásával, egyben tartásával érte el. Az együttműködésekben rendre többet adott a maga tudásából és lehetőségeiből, mint amit elvárt a partnerektől, sokan köszönhetik sikereiket és eredményeiket önzetlen támogatásának, útmutatásának.

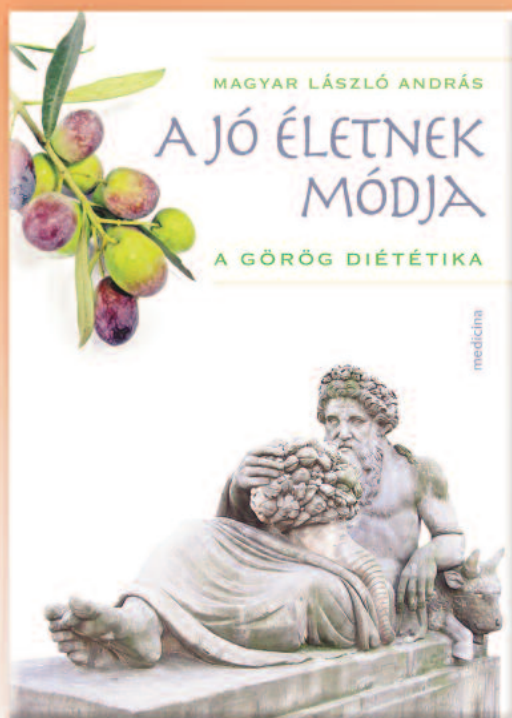
Tudománypolitikai tevékenysége is kimagasló volt. Meghatározó szerepet játszott a Magyar Immunológiai Társaság munkájában annak megalakulása óta, 2004–2007 között a MIT elnöke volt. A társaság történetét bemutató könyv egyik szerkesztőjeként diktafonnal járta az országot és készített interjút a MIT meghatározó alakjaival. Az Európai Komplement Hálózat vezetőségi tagja és elnöke volt (1986–2002), több akadémiai bizottság (az MTA Orvosi Osztály II. Bizottságának titkára volt 1996–2007 között) és szakmai kollégium munkájában is részt vett, az OTKA Bizottság és számos tudományos társaság tagja volt.

Dr. Füst György életútja a hazai és nemzetközi tudományos közösség számára is iránymutató, példaértékű volt. Tanítványai megtanulhatták tőle a lényegre való koncentráls képességét, az eredmények abszolút tiszteletét és a racionális tudományos gondolkodást. Munkatársait mindig a másik fél egyéniségét figyelembe vevő iránymutatással, mindazonáltal konzekvens pontossággal vezette pályájukon, teret engedve önálló ötleteiknek, de mindvégig koncentráls az el-érendő célra. A legapróbb tudományos eredményt is olyan

lelkesedéssel fogadta, hogy az diákjainak, munkatársainak szárnyakat adott. Önzetlenül tudott örülni más sikerének is. Mindig kikérte mások véleményét, mielőtt bármiben döntött volna, és az esetleges kritikát mindig pozitívan fogadta és önkritikusan elfogadta. Fantasztikus koncentrálsképességét bizonyítja, hogy képes volt egyszerre öt-hat cikken, feladaton is dolgozni, és ha ránézett egy elé tett oldalra, a szeme azonnal megtalálta a hibát. Puritán életet élt, szerény volt, ami csak az igazán nagy tudósokra jellemző, de rendkívül színes egyéniség. Felfedező, kíváncsi típus, ami életének nem csak szakmai oldalára volt igaz. A külföldi konferenciákon egy idegenvezetőt is megszégyenítő tájékozottsággal mutatta meg az adott város nevezetességeit, 65 évesen kezdett spanyolul tanulni, rajongott a zenéért, a színházért és a szépirodalmért. Unokáival együtt írtak és adtak ki egy mesekönyvet, ez is mutatja mennyire szeretett játszani, és hogy milyen sok energiát fordított szellemi fejlődésükre. Kiváló szakács volt, naprakészen tudta a sportesemények eredményeit, önmaga is rendszeresen úszott. Egy hete még a következő konferencia útiprogramját tervezgette, de végül nélkülünk utazott el és nagyon messzire. Félbemaradtak a megkezdett munkák, magával vitte a megálmodott terveket, a kincseit, a kifogyhatatlan ötleteket, amelyekből nekünk is mindig bőkezűen adott. Nagyon magasra tette a lécet és elengedte a kezünket, de kötelességünknek érezzük munkájának folytatását azzal a lelkelettel és céllal, amit tőle kaptunk. A gyász és a súlyos veszteség homályosítja a jelen pillanatait, azonban akik ismertük és szerettük, nem felejtjük. Sem a munkát, amit végzett, sem a lelkeletet, ahogy azt végezte.

a Semmelweis Egyetem III. Sz. Belgyógyászati Klinika,
Kutató Laboratórium közvetlen munkatársai

a Medicina Könyvkiadó ajánlata



Ára: 1980 Ft



Ára: 5600 Ft



Ára: 3200 Ft



Ára: 2150 Ft



Medicina Könyvkiadó Zrt.

1072 Budapest, Rákóczi út 16.

tel.: 36(1)312-2650

Keresse könyveinket a honlapunkon
www.medicina-kiado.hu
valamint márkaboltjainkban



AMIKOR A KOMBINÁCIÓ NEM LEHETSÉGES

EGY BIOLÓGIAI
MONOTERÁPIA
KIEMELKEDIK
A TÖBBI KÖZÜL

RoActemra 20 mg/ml koncentrátum oldatos infúzióhoz.

Minőségi és mennyiségi összetétel: A koncentrátum 20 mg tocilizumabot tartalmaz milliliterenként.

A tocilizumab rekombináns DNS-technológiával előállított humanizált, IgG1 monoklonális antitest, humán interleukin-6 (IL-6) receptor antagonistája. 80 mg tocilizumab 4 ml-ben, 200 mg 10 ml-ben, 400 mg 20 ml-ben injekciós üvegekben. **Gyógyszerforma:** koncentrátum oldatos infúzióhoz. **Terápiás javallatok:** A RoActemra metotrexáttal (MTX) kombinálva közepesen súlyos vagy súlyos, aktív rheumatoid arthritis kezelésére javasolt olyan felnőtt betegek esetében, akik nem reagáltak megfelelő módon vagy intoleranciát mutattak más, előzőleg alkalmazott, egy vagy több betegségmódosító antireumatikus gyógyszerre (DMARD) vagy tumor nekrosis faktor (TNF) antagonisták kezelésére. Ezeknél a betegeknél a RoActemra monoterápiaként is adható metotrexát intolerancia esetén vagy ha a metotrexáttal történő tartós kezelés nem alkalmazható. A RoActemra metotrexáttal kombinációban adva a röntgennel történő mérések alapján az ízületi károsodás progressziója arányának csökkenését és a fizikai funkciók javulását mutatta. A RoActemra olyan 2 éves, vagy annál idősebb, aktív szisztémás juvenilis idiopathiás arthritisben (sJIA) szenvedő betegek kezelésére javasolt, akik nem reagáltak megfelelő módon az előzőleg alkalmazott, nem-szteroid gyulladásgátlókkal és szisztémás kortikoszteroidokkal végzett kezelésre. A RoActemra monoterápiaként (ha metotrexát intolerancia áll fenn vagy a metotrexát-kezelés nem alkalmazható), vagy metotrexáttal kombinálva adható. **Adagolás és alkalmazás módja:** **RA-s betegek:** A RoActemra javasolt adagja 8 mg/ttkg 4 hetente, higitás után 1 órás intravénás infúzióban. 100 kg-nál nagyobb testtömegű betegeknek 800 mg-ot meghaladó infúziónkénti dózis nem ajánlott. Laboratóriumi eltérések esetén szükséges dózismódosítások megtalálhatók a részletes alkalmazási előírásban. **sJIA-s betegek:** A javasolt adagolás kéthetente egyszer 8 mg/kg 30 kg-os vagy annál nagyobb testtömegű betegeknek, ill. kéthetente egyszer 12 mg/kg 30 kg-nál kisebb testtömegű betegeknek. Az adagot minden egyes alkalommal a beteg testtömege alapján kell kiszámolni. Laboratóriumi eltérések esetén szükséges dózismódosítások megtalálhatók a részletes alkalmazási előírásban. **Ellenjavallatok:** A készítmény hatóanyagával vagy bármely segédanyagával szembeni túlérzékenység. Aktív, súlyos fertőzések. **Nemkívánatos hatások, mellékhatások:** Felső légúti fertőzések, cellulitis, pneumonia, orális herpes simplex, herpes zoster, conjunctivitis, gastritis, bőrkötés, fejfájás, szédülés, máj transzaminázok emelkedése, hipertensio, neutropenia, thrombocytopenia, hypercholesterinaemia. **Gyógyszerköcsönhatás:** A máj CYP450-enzimeinek az IL-6 által gátolt expressziója tocilizumab-kezelés hatására felszabadul a gátlás alól, ezért a terápia kezdésekor vagy leállításakor ellenőrizni kell az egyénileg beállított adagolását, a CYP 450 enzim által metabolizáló gyógyszereket szedő betegeket, mert a terápiás hatás fenntartásához dózisémelésére lehet szükség. **Figyelmeztetések:** A RoActemra alkalmazása megfontolandó fennálló diverticulitis esetén. Terhes nőkön történő alkalmazásra nincs megfelelő adat. A RoActemra biztonságosságát és hatékonyságát 2 évnél fiatalabb gyermekek esetében nem igazolták. Nincsenek rendelkezésre álló adatok. Tárolás: 2-8 °C között. **Rendelhetőség:** "I" TB támogatás mértéke: RA indikációban Eü100% 26/a - Magyar Közlöny 2012. évi 1. szám EüM rendelet, <http://www.oep.hu/Szakmaioldalak/Gyogyszer/Publikus/Gyogyszerszertorz>; sJIA indikáció TB támogatás folyamatban. **Fogyasztói ár:** 210 368 Ft/400mg 1x, 105 630 Ft/200 mg/1x, 42 788 Ft/80 mg/1x EU tkvi szám: EU/1/08/492/001, EU/1/08/492/003, EU/1/08/492/005. **Bővebb információért olvassa el a gyógyszer alkalmazási előírását (2012. június 28.)**

További információ: Roche (Magyarország) Kft., 2040 Budaörs, Edison u. 1., Tel: 06-23-446 800, Fax: 06-23-446 860, Email: info@roche.hu Internet: www.roche.hu

Referencia: Adapted from Gabay C, et al. Ann Rheum Dis 2012;71(Suppl3):152. **Dokumentum zárásának időpontja:** 2012 szeptember 21.