

Nyirokerek szerepének vizsgálata kontakt hiperszenzitivitás (CHS) szenzibilizációs és elicitációs fázisában in vivo egérmodellben

Kovács Gábor SE ÁOK V., Szőke Dániel SE ÁOK VI.

Bevezetés: A bőr túlérzékenységi reakcióját – allergiás kontakt dermatitis – különféle kémiai ágensek válthatnak ki. Az allergénnel történő első találkozáskor kialakul a szenzibilizáció, majd ismételt allergén expozíció hatására az elicitációs fázis, melynek során duzzanat, vörösség, viszketés és fájdalom jelentkezik. A bőr nyirokereinek szerepe régóta ismert az immunválasz szabályozásában fertőzőes betegségekben, azonban a kontakt dermatitis kialakulásában betöltött szerepük máig tisztázatlan. Ezen betegség vizsgálatára a kontakt hiperszenzitivitás egérmodell (CHS) alkalmaztuk. Tavalyi TDK konferencián ismertetett eredményeink alapján az Flt4kd/+ testszerte bőr nyirokérhiányos egerekben a gyulladás mértéke elmaradt a vad típusú állatokban megfigyelthez képest.

Célkitűzés: Kutatásunk célja, hogy a nyirokerek szerepét a CHS modell szenzibilizációs és elicitációs fázisaiban, transzgenikus egerek segítségével vizsgáljuk.

Módszerek: Kísérleteinkben az Flt4-CreERT2; iDTRflo/flox egértörzset használtuk, melyben diftéria toxin injektálásával helyi nyirokérpusztulást indukáltunk a fülben. A CHS modellben az állatok hasbőrét 3%-os TNCB (2,4,6-trinitroklorobenzén) oldattal, bekenve érzékenyítettük a Th1 sejteket, ezáltal iniciálva a szenzibilizációs fázist. Majd az állatok fülét 1%-os TNCB oldattal kezelve indukáltunk elicitációs fázist. A gyulladást a fülvastagság mérésével, H&E szövettannal és immunhisztokémiával, valamint áramlási citometriával vizsgáltuk.

Eredmények: Flt4-CreERT2; iDTRflo/flox diftéria toxinnal kizárólag a fülben nyirokér hiányossá tett egerekben a TNCB kezelés hatására az elicitációs fázis végére nagyobb vastagság növekedést tapasztaltunk, mint az intakt nyirokérrendszerű fülekben, mely elváltozás szövettani metszeteken is jól detektálható volt. Az immunsejt (granulocita és limfocita) infiltráció is jelentősebbnek bizonyult lokális nyirokérhiány esetén immunfestéssel és áramlási citometriával vizsgálva.

Következtetések: A korábbi és jelen eredményeink arra utalnak, hogy a bőr nyirokere a CHS elicitációs és szenzibilizációs fázisában is szerepet játszanak, azonban eltérő a funkciójuk a betegség két szakaszában. Az adataink felvetik, hogy a szenzibilizációs fázisban a nyirokerek hozzájárulnak az érzékenyítés folyamatához, míg az elicitációs fázisban a gyulladásos folyamat és az immunsejt infiltráció mérséklésében vesznek részt.

Korábbi publikációk: nincs

Témavezető(k): Aradi Petra, PhD-hallgató, Élettani Intézet, Dr. Jakus Zoltán Péter, egyetemi docens, Élettani Intézet

Per os antibiotikum kezelés hatása egy multirezisztens Klebsiella pneumoniae törzs gastrointestinalis kolonizációjára egérmodellben

Farkas Ferenc Balázs SE ÁOK IV.

A kolonizációs rezisztencia a mikrobióta azon képességére utal, mely megakadályozza az exogén úton szerzett baktériumfajok megtelepedését és expanzióját. Ez egy kulcsfontosságú védekezési mechanizmus melyet az antibiotikum terápia károsíthat. Korábbi kutatások azt mutatják, hogy a mikrobióta összetételének megváltozása, főként az anaerob baktériumok egyes csoportjainak eliminációja, multirezisztens baktériumok dominanciájához vezet antibiotikummal kezelt egerek gastrointestinalis traktusában.

Jelen kutatásban célunk különböző per os antibiotikum kezelések Klebsiella pneumoniae (KP5825) kolonizációra kifejtett hatásának, valamint a törzs által hordozott rezisztencia gén kópiaszámok (RGCN) változásának vizsgálata volt. A törzs egy PMQR gént (aac(6')-Ib-cr), egy széles spektrumú β -laktamáz (CTX-M-15), valamint egy karbapenemáz enzimet expresszált.

Kísérleti állatmodellünkben hím, 6-8 hetes, C57BL/6 egereket alkalmaztunk. A kolonizációhoz 5×10^6 CFU P5825 oldatot juttatunk be orálisan, ampicillin (AMP) előkezelés 14., valamint 15. napján. Ezt követően az állatokat 6 csoportba osztottuk. A csoportok a következő antibiotikus kezelést kapták 15 napon keresztül az ivóvízbe keverve: 0.5g/l AMP, 0.1g/l ceftazidim (CAZ), 0.5g/l CAZ, 0.1g/l ciprofloxacín (CIP) és 0.5g/l CIP (6. csoport: kontroll). Minden 3. napon friss székletmintákat gyűjtöttünk, melyekből mikrobiális DNS izolálása történt.

Kísérleteink második szakaszában az intestinalis mikrobióta összetétel meghatározásához a 16S rRNS gén V3-V4 régiója amplifikálásra, majd szekvenálásra került Illumina MiSeq platformmal. A KP5825 DNS mennyiségének, valamint a RGCN meghatározásához qPCR technikát alkalmaztunk.

Eredményein szignifikáns perturbációt mutatnak az egerek intestinalis mikrobiótájában. Azt is megfigyelhettük, hogy 15 nap elteltével a KP5825 DNS mennyisége szignifikánsan csökkent a kontrollcsoportban ($p < 0,004$) és a CIP kezelt csoportokban ($p < 0,0001$, $p < 0,002$). Az AMP- és CAZ-kezelt csoportokban a KP5825 DNS mennyisége nem változott.

Továbbá qPCR eredményeink alapján megállapítható, hogy a magasabb dózisú CAZ-kezelés a CTX-M-t hordozó plazmidok mennyiségeinek négyszeres növekedését eredményezi. Tehát CAZ-nek nagyobb szerepe volt a rezisztencia gének disszeminációjában, mint a CIP-kezelésnek. Ez felveti az in vivo plazmid transzfer lehetőségét, amelyet további kísérleteink során vizsgálni kívánunk.

Korábbi publikációk: Korábbi publikáció ebben a témában nem jelent meg.

Témavezető(k): Dr. Szabó Dóra, DSc, egyetemi tanár, Orvosi Mikrobiológiai Intézet, Dr. Kocsis Béla, PhD, egyetemi tanár, Orvosi Mikrobiológiai Intézet