



Molekuláris onkológia, jelátvitel és szubcelluláris folyamatok

A szekció időpontja:

2021. május 7. 14:00-16:30

A BÍRÁLÓBIZOTTSÁG TAGJAI

Dr. Horváth Eszter Mária

egyetemi docens
Élettani Intézet
Semmelweis Egyetem

Dr. Patócs Attila

az MTA doktora, egyetemi tanár
Klinikai Genetika és Endokrinológiai Laboratórium
Semmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézet
osztályvezető, Molekuláris Genetikai Osztály
Országos Onkológiai Intézet

Dr. Szentmártoni Gyöngyvér

egyetemi adjunktus
Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Onkológiai Részleg
Semmelweis Egyetem

A SZEKCIÓ ELŐADÁSI RENDJE

Időszak	Előadó	Előadás címe
14 ⁰⁰ –14 ⁰³	Bakó Eszter	Cyclophyllin-D gátlás mitokondriális funkcióra gyakorolt hatása ALPPS-on átesett rágszáló modellen
14 ⁰³ –14 ⁰⁶	Erdélyi-Furka Barbara Fanni Halmi Dóra	Irradiáció indukálta szívizom-károsodás modellezése H9c2 sejtvonalon
14 ⁰⁶ –14 ⁰⁹	Kalabay Márton	Tamoxifen származékok hatásmechanizmusának vizsgálata pancreas- és emlőtumor sejtvonalakon
14 ⁰⁹ –14 ¹²	Kotmayer Lili	A BTK C481S rezisztenciamutáció érzékeny kimutatása és monitorozása ibrutinib kezelés során terápia refrakter/relabált krónikus lymphocytás leukémiában
14 ¹² –14 ¹⁵	Nagy Ádám	Kemoszenzitivitást befolyásoló stromális tényezők vizsgálata colorectalis carcinoma organoid modellel
14 ¹⁵ –14 ¹⁸	Orbán Gábor	Új bioszenzorok fejlesztése az extracelluláris adenosin-nukleotidok sebzáródásban betöltött szerepének és egyéb funkcióinak megismerésére
14 ¹⁸ –14 ²¹	Tóth Enikő	A szintetikus, kis-molekulasúlyú BMP induktor hatása a fibrózisra
-	Szöllősi Tamás	Mesenchymális sejtek inflammatórikus és regeneratív szerepének vizsgálata szövetsérülést követően zebrafish modellen (Versenyen kívüli ÚNKP beszámoló)
-	Tusnády Simon	Kristály indukált gyulladásos betegségek molekuláris mechanizmusainak vizsgálata (Versenyen kívüli ÚNKP beszámoló)
14 ²⁵ –14 ⁴⁰	Kötetlen posztermegtekintés	
14 ⁴⁰ –16 ³⁰	Poszterdiszkusszió	

Cyclophyllin-D gátlás mitokondriális funkcióra gyakorolt hatása ALPPS-on átesett rágcsló modellen

Bakó Eszter

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, IV.

Kulcsszavak: ALPPS; Cyclophyllin-D; mitokondriális funkció

Az ALPPS (Associating Liver Partition and Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy) a primeren irrezekábilis májdaganatok kezelésére szolgáló eljárás, melynek előnye, hogy rövid időn belül nagymértékű májregeneráció érhető el. Azonban a műtéten átesettek körében magas a morbiditási és a mortalitási arány, ennek fő oka a poszthepatektómiás májelégtelenség. Előzetes eredményeink alapján a jelenség hátterében meghúzódó egyik patomechanizmus a sejtekben fellépő energetikai diszbalansz lehet.

Jelen kísérletünkben a Cyclophyllin-D (CypD) gátlás, mint a sejthalál folyamatában szerepet játszó protein, mitokondriális funkcióra gyakorolt hatását vizsgáltuk ALPPS-on átesett egerek májában.

CypD knockout (CypD-KO) (n=30) és vad típusú (WT) BL6/jk (n=30) hím egerek ALPPS műtéten estek át. Az állatok terminálása (0, 24, 48, 72, 168 h) után regenerációs ráta és mitokondriális funkció került meghatározásra, a bazális és indukált O₂ fogyasztás az I. és II. komplexen, ezen kívül az ATP szintézis és a NADPH egyensúly.

Az I. komplex indukált ATP szintézise szignifikánsan magasabb volt a 2. posztoperatív napon a CypD-KO csoportban, mint a WT csoportban ($321,79 \pm 75,15$ vs. $229,29 \pm 47,18$ CypD-KO vs. WT, $p < 0,05$). A 2. posztoperatív napon mért bazális és indukált O₂ fogyasztás szintén szignifikánsan magasabb volt a CypD-KO egerekben, mint a WT csoportban (bazális: $31,68 \pm 5,925$ vs. $23,94 \pm 3,82$ nmol/min/mg, CypD-KO vs. WT, $p < 0,05$, indukált: $174,2 \pm 33,47$ vs. $126,3 \pm 25,3$ nmol/min/mg CypD-KO vs. WT, $p < 0,05$). Ezzel szemben az I. komplex oxigénfogyasztása nem tért el jelentősen a két csoportnál. Szintén nem volt szignifikáns különbség a NADPH egyensúly változásaiban. A regenerációs ráta esetében szignifikáns növekedést tapasztaltunk a műtéten átesett állatokon a 0 h-kor terminált egerekhez képest (100% vs. $345 \pm 11,41\%$ vs. $336 \pm 12,58\%$ 0 h vs. WT vs. CypD-KO, $p < 0,0001$).

Következtetés: Eredményeink szerint az O₂ felhasználás és ATP szintézis jelentősebb volt a CypD-KO egerekben. Ismereteink szerint első alkalommal igazoltuk, hogy ALPPS során a CypD blokkolása növeli a májsejtek energetikai stabilitását, ezért a CypD blokkoló szerek a jövőben fontos szerepet tölthetnek be az ALPPS-on átesett betegek szövődeményeinek és a mortalitásának csökkentésében.

Témavezető:

Dr. Fülöp András PhD, sebész szakorvos, a Kísérleti Műtő megbízott vezetője, SE I. sz.

Sebészeti Klinika

Prof. Dr. Szijártó Attila med. habil. PhD, sebész szakorvos, egyetemi tanár, Kísérleti Műtő szakmai vezetője, klinika igazgatója, SE I. sz. Sebészeti Klinika

Anyagi támogatás, ösztöndíj: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal OTKA-K115607

Irradiáció indukálta szívizom-károsodás modellezése H9c2 sejtvonalon

Erdélyi-Furka Barbara Fanni

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, V.

Halmi Dóra

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, VI.

Kulcsszavak: irradiáció; kardiomioblaszt; szívizom-károsodás; sejtelhalás; apoptózis

Háttér: A daganatos megbetegedések napjainkban igen magas morbiditással és mortalitással rendelkeznek. Az egyik leggyakrabban alkalmazott terápiás lehetőség az irradiáció, mely bár szükséges a tumor eliminációjához, számos intracelluláris folyamatot indukál, melyek az egészséges szövetek hosszútávú károsodásához is vezethetnek. Mellkasi tumorok besugárzása esetén sérülhetnek a kardiomiociták a szív pumpafunkciójának romlását eredményezve vagy szerkezeti remodeláció is bekövetkezhet.

Célkitűzés: Mivel ezen patológiás kórképek celluláris folyamatok összességéként alakulnak ki, kutatásunk célja egy olyan patkány kardiomioblaszt alapú in vitro irradiáció által kiváltott szívizom-károsodás modell felállítása, melyben a végbemenő celluláris folyamatokat karakterizálni tudjuk.

Módszerek: Munkánk során H9c2 patkány kardiomioblaszt sejtvonalat használtunk a radiogén szívkárosodás intracelluláris mechanizmusainak modellezésére. A sejtek kiültetést követően egyszeri 1, 2, 5 és 10 Gray sugárdózisban részesültek, majd a protokoll végén megmértük a sejtek viabilitását (calcein, MTT esszé) és az oxidatív stressz szintet is dihidroetidium-festés segítségével. Az irradiáció kiváltotta sejthalál típusok közötti differenciáció érdekében laktát-dehidrogenáz enzimaktivitást mérést, az apoptotikus sejtmorfológia vizsgálatára, valamint a DNS kettős törések kimutatására immunhisztokémiát is végeztünk.

Eredmények: Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a nagyobb dózisú irradiációk szignifikánsan csökkentették a sejtek életképességét (kontroll %-ban: 2Gy: $87 \pm 2\%$, 5Gy: $81 \pm 3\%$, 10Gy: $71 \pm 3\%$), ugyanakkor szignifikánsan növelték az oxidatív stressz mértékét (kontroll %-ban: 2Gy: $119 \pm 7\%$, 5Gy: $124 \pm 6\%$, 10Gy: $122 \pm 5\%$). Mindemellett a besugárzást követően megnőtt az apoptotikus morfológiai jelek és a DNS kettős törések száma is.

Következtetés: Munkánk során sikeresen létrehoztunk egy in vitro patkány kardiomioblaszt sejtvonal alapú modellt, amelyben megfigyelhetőek voltak az irradiáció sejtvitalitást csökkentő és oxidatív stresszt növelő hatásai is. Emellett a sugárterápia sejtmagi morfológiára gyakorolt hatása is kimutatható volt, így a későbbiekben modellünk potenciális citoprotektív anyagok tesztelésére is alkalmas az irradiáció indukálta kardiális sejtkárosodás csökkentése céljából.

Témavezető:

Dr. Gáspár Renáta, egyetemi adjunktus, SZTE Biokémiai Intézet

Anyagi támogatás, ösztöndíj: GINOP-2.3.2-15-2016-00040; 20391-3/2018/FEKUSTRAT, ÚNKP-20-2-SZTE-59, NKFIH_FK129094

Tamoxifen származékok hatásmechanizmusának vizsgálata pancreas- és emlőtumor sejtvonalakon

Kalabay Márton

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, V.

Kulcsszavak: pancreas tumor; emlő tumor; tamoxifen; drug targeting

Háttér: A tamoxifen egy jól ismert, a SERM családba tartozó antitumor szer, mely számos, nem ösztrogén receptorhoz kötött sejtfiziológiai folyamatot is befolyásol (pl. angiogenezis gátlás, PKC gátlás). Korábbi kutatások alapján elmondható, hogy az alapmolekula megváltoztatása jelentős hatásváltozással, vagy hatásvesztéssel járhat.

Célkitűzés: Jelen munkánk célkitűzése annak vizsgálata volt, hogy az alapvegyület ferrocénezése (T5, T15) és halogénezése (T6) milyen mechanizmusokon át javítja a tumorelles hatást. Ehhez elvégeztük: (1) a sejtvonalak ösztrogén receptor expressziós profiljának meghatározását, (2) a tesztelt derivátumok okozta apoptózis mérését, (3) a származékok okozta oxidatív stressz mérését, (4) szerkezet-hatás összefüggések leírását.

Módszerek: A tamoxifent és származékait három sejtvonalon vizsgáltuk: PANC1 (pancreas adenoc.), MCF7 (ER+ emlő adenoc.), MDA-MB231 (ER- emlő adenoc.). Az ösztrogén receptor expresszió antitest alapú meghatározásához Zeiss CD7 platformot használtunk. A kiváltott apoptózis mérése FACSCalibur áramlási citométer és Annexin V, és 7AAD jelöléssel történt. A kiváltott fehérje expressziót Proteome Profiler Human Apoptosis Array Kit segítségével vizsgáltuk. A reaktív oxigéngyök termelést ROSGlo assay-vel mutattuk ki.

Eredményeink: MDA-MB231 sejteken sikerült igazolnunk az ER β jelenlétét. PANC1 sejteken egyik derivátum sem növelte az apoptotikus sejtek arányát. MDA-MB231 sejteken a ferrocénezett derivátumok hatására nőtt a korai és a késői apoptotikus alakok aránya a tamoxifen kezeléshez képest. MCF7 sejteken a halogénezett származékkal való kezelés szignifikánsan növelte mindkét apoptotikus alak arányát. MCF7 sejteken számos apoptotikus regulátor (pl. Cyt-C, DR4-5, HO1) jelenléte volt kimutatható. A reaktív oxigéngyök-termelés szintjét a ferrocénezett származékokkal való kezelés szignifikánsan növeli mindhárom sejtvonalon. A halogénezett derivátum hatására szignifikáns ROS termelés-növekedés mutatkozott MCF7 és PANC1 sejteken.

Következtetések: A derivátumok okozta tumorelles hatás növekedése mögött ösztrogén receptor-függő és független mechanizmusok állnak. Ösztrogén receptor pozitív sejtvonalakon is kiemelt szerepet játszanak a receptor-független mechanizmusok, köztük a ROS termelés és az apoptózis indukció.

Témavezető:

Dr. Köhidai László, egyetemi docens, SE Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet
dr. Takács Angéla, PhD hallgató, SE Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Anyagi támogatás, ösztöndíj: Technológiai és Innovációs Minisztérium NVKP_16-1-2016-0036, Új Nemzeti Kiválóság Program ÚNKP-20-2-SE-18, Kiegészítő Kutatási Kiválósági Ösztöndíj EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009

A BTK C481S rezisztenciamutáció érzékeny kimutatása és monitorozása ibrutinib kezelés során terápia refrakter/relabált krónikus lymphocytás leukémiában

Kotmayer Lili

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, V.

Kulcsszavak: krónikus lymphocytás leukémia; ibrutinib; BTK; rezisztencia

Bevezetés: A Bruton-féle tirozin kináz (BTK) inhibitor ibrutinib az elmúlt években alapjaiban rajzolta át a terápia refrakter/relabált krónikus lymphocytás leukémia (R/R CLL) kezelését. A jelentős eredmények ellenére a betegek mintegy 20%-ában ibrutinib rezisztencia és a CLL progressziója figyelhető meg, melynek hátterében a BTK és PLCG2 géneket érintő mutációk állnak. Az eltérések közül kiemelendő a BTK gén p.C481S aminosavcserével járó mutációja, amely a leggyakrabban előforduló rezisztenciamutáció, azonban rendszeres vizsgálatára jelenleg nincs nemzetközileg elfogadott ajánlás.

Célkitűzés: Tanulmányunk során célul tűztük ki egy digitális droplet PCR (ddPCR) módszer kidolgozását a BTK p.C481S rezisztenciamutáció érzékeny kimutatására, valamint az eltérés megjelenése és a betegség progressziója közötti összefüggés vizsgálatát.

Módszerek: Munkánk során 83 ibrutinib monoterápiában részesülő R/R CLL-es beteg perifériás vérből származó sorozatmintáit vizsgáltuk. A prospektív tanulmány során a mintákban a tumorsejtarány megállapítását követően a BTK p.C481S mutáció variáns allélfrekvenciáját a QX200 digitális droplet PCR rendszer alkalmazásával határoztuk meg, egyedi tervezésű lókuszspezifikus assay-k segítségével.

Eredmények: A medián 40 hónapos követési idő alatt az ibrutinib terápiaiban részesülő betegek 48,2%-ában (40/83) azonosítottuk a BTK p.C481S mutációt. A CLL progressziója az eltérést hordozó esetek 80%-ában (32/40) következett be, mely során a rezisztenciamutáció megjelenése medián 9 hónappal előzte meg a progresszió első klinikai manifesztációját. Az ibrutinib terápia időtartama alatt progrediáló betegcsoport 72,7%-ánál (32/44) azonosítottuk az eltérést. A progressziót követően a BTK p.C481S eltérést hordozó ibrutinib rezisztens betegek 84,4%-a (27/32) részesült Bcl2-inhibitor venetoclax terápiaiban, amely minden esetben a mutációt hordozó CLL szubklón eliminációjához vezetett.

Következtetés: A BTK p.C481S ddPCR-rel történő érzékeny monitorozása az ibrutinib terápiaiban részesülő R/R CLL-es betegek mintegy 75%-ában lehetővé teszi a progresszió előrejelzését. A mutáció első detektálása közel egy évvel megelőzheti a progresszió klinikai tüneteinek megjelenését, így vizsgálata segíti az ibrutinib kezelés hatékonyságának nyomonkövetését.

Témavezető:

Dr. Bödör Csaba, tudományos főmunkatárs, SE I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

Anyagi támogatás, ösztöndíj: Emberi Erőforrások Minisztériuma NKFIH K16_119950, KH17-126718, NVKP_16-1-2016-0004, K131458, FK20_134253, Kerpel tehetségdíj

Kemoszenzitivitást befolyásoló stromális tényezők vizsgálata colorectalis carcinoma organoid modellel

Nagy Ádám

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, IV.

Kulcsszavak: vastagbél rák; organoid; extracelluláris vezikula; kollagén;

A vastag- és végbélrák (CRC) a colonból és a rectumból kiinduló rosszindulatú daganat. A CRC miatti halálozás az egész világon növekszik, Magyarországon a második leggyakoribb daganatos halálok. A tumoros sejteket körülvevő extracelluláris mátrix (ECM), kapillárisok, immunsejtek, aktivált fibroblasztok és egyéb sejt típusok alkotják a daganat stromáját, vagyis a tumor mikrokörnyezetet (TME). A CRC progressziója a TME által nagyban irányított, melyet jelentősen befolyásolnak a daganat és a stromális sejtek által kibocsátott extracelluláris vezikulák (EV). Az EV-k membránnal körülhatárolt struktúrák, melyek számos biológiai fontos molekulát (pl. RNS, protein) szállítanak. A humán tumorok egyik legmodernebb vizsgálati módszere az organoid technológia, melynek előnye, hogy megtartja a kiindulási epitheliális szövetre jellemző sejtes heterogenitást.

Az organoidok a személyre szabott medicina egyik ígéretes módszere, bár a TME hatását nem modellezzik megfelelően. Kísérleteinkben arra voltunk kíváncsiak, hogy a fibroblaszt-eredetű EV-k, valamint az ECM komponens kollagén, mint fontos TME faktorok, milyen módon befolyásolják a CRC beteg eredetű organoidok kemoszénzitivitását.

Betegek műtéti mintáiból származó CRC organoidokat Matrigel-ben, illetve kollagénben tenyésztettünk, és citosztatikumokkal (17-AAG, irinotecan) való kezelés után meghatároztuk az IC50 értéket kolóniaformálási, illetve CellTiter-Glo életképességi assay-vel. Az EV-ket colon fibroblasztok felülszójából ultracentrifugálással izoláltuk, majd az EV-kkel az organoidokat kezeltük.

Az egyes betegekből létrehozott organoid tenyészetek eltérő IC50 értékeket mutattak, s az IC50 értékek a kétféle módszerrel meghatározva különböztek. A CRC organoidokból kollagénben megemelkedett a kivándorló sejtek száma. Az IC50 értékeket és az életképességi görbéket vizsgálva az EV-k hozzáadása nem hozott szignifikáns változást, ugyanakkor kollagénben a kemoszénzitivitás enyhe csökkenését tapasztaltuk.

A CRC betegekből készített organoidok kemoszénzitivitási vizsgálata során az EV-k hatását nem tudtuk bizonyítani, az ECM összetétele azonban módosíthatja az eredményeket. Kísérleteink fontos lépést jelentenek az organoidokon alapuló, a TME-t is figyelembe vevő módszer fejlesztésében a személyre szabott medicina számára.

Témavezető:

Dr. Wiener Zoltán, Egyetemi docens, SE Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Soós András Áron, PhD hallgató, SE Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Anyagi támogatás, ösztöndíj: Semmelweis Tudományos és Innovációs Alap STIA_19

Új bioszenzorok fejlesztése az extracelluláris adenosin-nukleotidok sebzáródásban betöltött szerepének és egyéb funkcióinak megismerésére

Orbán Gábor

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, IV.

Kulcsszavak: bioszenzor; adenosin-trifoszfát; szöveti sérülés; gyulladás; sérülés szignálok

A biológiai kompartmentumokban előforduló nukleotidok szintje és egymáshoz viszonyított aránya szigorúan szabályozott. Ilyen szorosan kontrollált nukleotid az extracelluláris ATP, mely irodalmi adatok alapján elengedhetetlen a nyálkahártyák hámsérüléseinek percek alatt történő bezárásához. Szintjének folyamatos szabályozásáért a sejtek felszínén elhelyezkedő ektonukleotidáz enzimek által katalizált defoszforiláció felelős, ami ADP-t eredményez. Nem ismert azonban, hogy a különböző adenosin-nukleotidok milyen koncentrációkban vannak jelen a sebösszehúzóds folyamatok során, és az sem, hogy szintjeik szabályozásáért milyen egyéb mechanizmusok felelősek az ektonukleotidázokon kívül. Kutatásunk célja az volt, hogy az ADP és ATP koncentrációk minél pontosabb extracelluláris feltérképezését tegyük lehetővé. Kiválasztottunk két G-protein kapcsolt purinerg receptort, amelyek ligandjai az adenosin-nukleotidok. Ezek felhasználásával komplex molekuláris biológiai technikákkal több ATP-re és ADP-re specifikus, genetikailag kódolt fluoreszcens bioszenzort fejlesztettünk. A kódoló plazmidokat HEK293A sejtekbe transzfektáltuk, és kiszelektáltuk a legmagasabb fluoreszcens intenzitásváltozást mutató változatokat. Több mérést végezve 100 μ M-os ATP koncentráció-növekedés az ATP-re specifikus szenzor fluoreszcens jelében 93%-os, míg ugyanakkora ADP-szint emelkedés mellett az ADP-specifikus szenzorban 48%-os emelkedést okozott átlagosan. Munkánk jelentőségét jelzi, hogy ezelőtt még nem írtak le ADP-re specifikus szenzort, és a korábbi ATP-re fejlesztett fluoreszcens bioszenzorokkal sem tapasztaltak ilyen mértékű konzisztens intenzitásváltozást.

Szenzoraink gátlószerek iránti érzékenységét is karakterizáltuk, továbbá in vivo kísérleteket végeztünk ektonukleotidáz inhibitorokkal a lárvakori áttetszősége miatt könnyedén tanulmányozható zebrafish modellben. Az ektonukleotidáz gátlószerek alkalmazása során a sebzáródáshoz kapcsolódóan fokozott hámsejt migrációt figyeltünk meg, mely feltételezhetően a magasabb extracelluláris ATP koncentrációkkal áll összefüggésben. Többek között ennek a kérdésnek a pontos megválaszolására adhatnak lehetőséget az új szenzoraink. Fejlesztéseinktől azt is reméljük, hogy segítségükkel feltérképezhetjük az adenosin-nukleotidok számtalan további szerepét.

Témavezető:

Dr. Enyedi Balázs, egyetemi adjunktus, SE Élettani Intézet

Dr. Török Anna, tudományos főmunkatárs, SE Élettani Intézet

Anyagi támogatás, ösztöndíj: Új Nemzeti Kiválóság Program ÚNKP-20-2; TKP-2020; Lendület LP2018-13; HCEMM-SU Inflammatory Signaling Research Group

A szintetikus, kis-molekulasúlyú BMP induktor hatása a fibrózisra

Tóth Enikő

Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, V.

Kulcsszavak: fibrózis, tiloron, BMP

Bevezetés: A laryngeális fibrózis és a következményes gégeszűkület kialakulása a hosszan tartó intubálás súlyos szövödménye, kezelése kihívást jelent a gégegyógyászatban. A fibrózis a test összes szövetét érintheti és szervkárosodáshoz, súlyos esetben halálhoz vezethet. A szintetikus, kis-molekulasúlyú tiloron dihidroklorid a BMP (bone morphogenic protein) jelutat indukálja. Irodalmi adatok alapján epithel sejtekben fokozza a BMP jelátvitelt, és fokozza a BMP2, BMP4 és a BMP7 expresszióját, in vivo modellben pedig a tiloron csökkentette a tüdőfibrózis mértékét, így célunk in vitro modellben a légúti/gége fibroblasztokra gyakorolt hatásának tanulmányozása.

Módszerek: Kísérleteinkhez humán primer fibroblaszt sejteket izoláltunk a teljes gégeműtéten átesett betegek hangszálából ill. MRC5 humán sejtvonalat alkalmaztunk. A sejteket 10 μ M, 20 μ M és 35 μ M-os tilorone-nal kezeltük. A mRNS expressziót qPCR technikával vizsgáltuk, eredményeinket fluoreszcens immuncitokémiával is megerősítettük. A foszfo-Smad1/5/8 sejtmagi mennyiségét EpiSelector szoftver segítségével mértük. Az α -SMA-pozitív sejteket az ImageJ1.44 szoftverrel megszámláltuk CellCounter pluginnel. Az in vitro kétdimenziós sejtmigráció vizsgálatokat nagy áteresztőképességű élősejtes mikroszkópos vizsgálati rendszerrel végeztük. Az élősejtes mikroszkópia során készített sorozatfelvételeken a sejtek random mozgását CellTracker és FIJI képfeldolgozó programokkal analizáltuk.

Eredmények: A tiloron kivédte a TGF- β migrációt fokozó, valamint az alfa-SMA expressziót indukáló hatását és fokozza a BMP jelátvitelt jelző foszfo-Smad1/5/8 sejtmagi foszforilációt. A vizsgált BMP-k mRNS szintjei a tiloron kezelés következtében fokozódó hatást mutattak BMP2 (kontroll vs. tiloron kezelt: $0,01630 \pm 9,439e-005$ vs. $0,01868 \pm 0,001069$ önkényes egység) BMP4 (kontroll vs. tiloron kezelt: $0,006939 \pm 0,0002083$ vs. $0,008885 \pm 0,0003378$, n=4 önkényes egység), Gdf5-BMP14 (kontroll vs. tiloron kezelt: $0,03225 \pm 0,003864$ vs. $0,01909 \pm 0,0002533$ önkényes egység) esetén.

Megbeszélés: Eredményeink új lehetőségeket nyithatnak a heges gégeszűkületek, gégefibrózis kezelésére.

Témavezető:

Dr. Keller-Pintér Anikó, tudományos főmunkatárs, SZTE ÁOK Biokémia Intézet

Szabó Kitti, doktorjelölt, SZTE ÁOK Biokémia Intézet

Anyagi támogatás, ösztöndíj: NKFIH K 132446 és FK 134684 projektek, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, ÚNKP-20-5-SZTE-162 Új Nemzeti Kiválósági Program



Új Nemzeti Kiválóság Program

versenyen kívüli beszámolók

Mesenchymális sejtek inflammatórikus és regeneratív szerepének vizsgálata szövetsérülést követően zebrahal modellen

Szöllősi Tamás

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, VI.

A szövetsérülést követő gyulladás, illetve hatékony regeneráció különböző sejttypusok összehangolt működésének az eredménye. A kültakaró, illetve a nyálkahártyák felszíni sérülése esetén a hámsejtek alatt elhelyezkedő mesenchymális sejtek is központi szerepet tölthetnek be ebben a folyamatban, azonban pontos funkcióikról kevés ismeret áll rendelkezésre. Célkitűzésünk tehát e sejtek szerepének pontosabb feltárása volt.

Modellünk, a zebradánió lárvák farokúszója közel transzparens, mely fluoreszcens jelöléssel kombinálva az egyes inflammatórikus lépések hatékony in vivo követését teszi lehetővé. A farokúszót felszíni és bazális hámsejtek, valamint mesenchymális sejtek alkotják. A halak édesvízi környezete hipotóniás, hasonlóan az emberi nyálkahártyák felszínét borító váladékhoz, mely elengedhetetlen a lárvák hámsérüléseit követő korai sebzáródás és leukocita migráció létrejöttéhez. A szövetsértés és hipotóniás közeg hatására kialakuló gyulladás fontos mediátorai a Ca^{2+} szignál, a sejt-, és sejtmagduzzadás, melyek együttesen a cPLA 2 enzim aktivációjához és proinflammatórikus eikozanoid termeléshez vezetnek. Nem ismert egyelőre, hogy ezen folyamatok és jelátviteli utak milyen mértékben aktiválódnak egy sérült hámszövet különböző sejttypusaiban.

Szövetsérülés során a különböző sejttypusok funkcióinak elkülönített vizsgálatához szövetspecifikus jelölésre volt szükségünk. Ezt a hámsejtek esetében a krt4, illetve a krt1c19e promoterek alkalmazásával értük el, a mesenchymális sejteket pedig a saját fejlesztésű ITGα11-cfos promoterkombinációval jelöltük. Kísérleteink alapján a hipotóniás közeg intersticiális megjelenése néhány percig tartó intenzív Ca^{2+} oszcillációt vált ki a hámsejtekben, míg a mesenchymális sejtekre gyengébb, tónusosabb szignál jellemző. Eredményeink alapján a sejtmagduzzadás a bazális hámsejtekben volt a legintenzívebb, a cPLA 2 enzim aktivációja pedig mind a mesenchymális sejtekben, mind a bazális hámsejtekben megfigyelhető volt.

Kutatásunkkal először sikerült zebrahalakban mesenchymális sejteket specifikusan jelölnünk, valamint szövetsértést követően egyedileg mérni a sejtmagduzzadást, Ca^{2+} szignalizációt és cPLA2 aktivációt ezen sejtekben. A jövőben ezen sejtek specifikus ablációjával tervezünk még közelebb kerülni funkciójuk megértéséhez.

Témavezető:

Dr. Enyedi Balázs, Egyetemi adjunktus, Élettani Intézet

Anyagi támogatás, ösztöndíj: Új Nemzeti Kiválóság Program

Kristály indukált gyulladásos betegségek molekuláris mechanizmusainak vizsgálata

Tusnády Simon

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, I.

Bevezetés: A köszvényes ízületi gyulladás hátterében a mononátrium-urát (MNU) kristályok ízületekben és környező szövetekben történő lerakódása áll. A betegség kialakulásában kulcsfontosságú szerepet játszanak a neutrofil granulociták és makrofágok. A Semmelweis Egyetem Gyulladásélettani kutatócsoportjának korábbi eredményei alapján a sejtfelszíni Fc γ -receptorokról és β 2 -integrinekről induló immunreceptor(-szerű) jelátviteli folyamatokban szereplő Src-család kinázok és a Syk tirozin kináz elengedhetetlenek a neutrofil granulociták aktivációjában és a kísérletes autoimmun betegségmodellek kialakulásában (Futosi et al, Immunol Rev, 2016).

Célkitűzés és módszerek: Az ÚNKP „Tehetséggel fel” pályázat keretein belül csatlakoztam a munkacsoport kutatómunkájához, melyben ezen immunreceptor(-szerű) jelátvitel komponenseinek (Fc γ -receptorok, β 2 -integrinek, Src-család kinázok és a Syk kináz) szerepét vizsgálják az MNU-kristály által kiváltott gyulladásos folyamatokban transzgénikus és farmakológiai megközelítéssel. Elsődleges célom az volt, hogy elismert nemzetközi folyóiratok közleményei alapján vizsgáljam az MNU-kristályok által mediált jelátviteli utak kapcsán összegyűlt szakirodalmi információkat.

Eredmények: Kutatásom során több korábbi publikációt találtam, amelyben vizsgálták a fent említett molekulák szerepét az MNU-kristály által kiváltott gyulladásos folyamatokban. Barabé és munkatársai felvetették az Fc γ -receptorok és β 2 -integrinek jelentőségét. Azt találták, hogy CD16 és CD11b elleni antitestek jelenlétében csökkent a neutrofil granulociták MNU-kristályok által kiváltott szuperoxid-termelése és a Syk-kináz foszforilációja (FASEB J, 1998). Popa-Nita és munkatársai Syk kináz-gátló alkalmazásával hatékonyan csökkentették a neutrofil granulociták az MNU-kristályok által kiváltott degranulációját (Leukocyte Biology, 2007).

Következtetések: A szakirodalomban található adatok alapján megállapítható, hogy a β 2 -integrinek és Fc-receptorok által szabályozott jelátviteli útvonalak vizsgálata az MNU-kristályok által indukált gyulladásos folyamatokban releváns, és molekuláris pathomechanizmus egyes aspektusai további, transzgénikus megközelítéssel végzett vizsgálatokkal tisztázható.

Témavezető:

Dr. Futosi Krisztina, egyetemi adjunktus, SE ÁOK Élettani Intézet Gyulladásélettani Kutatócsoport

Dr. Mócsai Attila, egyetemi tanár, SE ÁOK Élettani Intézet Gyulladásélettani Kutatócsoport

Anyagi támogatás, ösztöndíj: Új Nemzeti Kiválóság Program