

Kísérletes Szekció előadásai

Bánvölgyi András dr.¹, Lőrincz Kende dr.¹, Gyöngyösi Nóra dr.¹, Haluszka Dóra¹, Keszeg András¹, Márton Dalma¹, Gódor Dorottya¹, Meinhard Wlaschek dr.², Karin Scharffetter-Kochanek dr.³, Kárpáti Sarolta dr.¹, Wikonkál Norbert dr.¹:

Lokális antioxidáns vegyület illetve fényvédő használata mellett hosszú távú PUVA besugárzás hatása a daganatképződésre Skh1 típusú egértörzsön vizsgálva

(Semmelweis Egyetem, Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika, Budapest¹, Department of Dermatology University of Ulm, Ulm, Németország², Klinik für Dermatologie und Allergologie, Ulm, Németország³)

Epidermalisan homozigóta MnSOD2 deficiens (-/-) egértörzsnel végzett korábbi vizsgálataink alapján az MnSOD2 szabadygok eliminációs rendszer szerepét meghatározónak találtuk a PUVA kezelés hatására képződő daganatok kialakulásának gátlásában. Az EUK-134 lokálisan használható antioxidáns vegyület, mely a mangán-szuperoxid dizmutáz és kataláz enzimek analógjaként funkcionál, használatával a normál antioxidáns szinthez képest fokozott szabadygok eliminációs hatást vártunk. Vizsgálatunkban normál MnSOD2 aktivitással rendelkező, Skh1 típusú hairless egereken vizsgáltuk PUVA kezelés hatását a daganatképződésre kizárólag psoralennel, vagy psoralen és EUK-134, illetve psoralen és PPD42 erősségű fényvédő használata mellett. Összesen 18 egéren, azaz csoportonként 6 egéren végeztünk 40 héten át heti 3 alkalommal 5 J/cm² dózisu UVA kezelést. A besugárzás előtt egy órával mindegyik egér bőrét 8-MOP krémmel érzékenyítettük, majd a besugárzás előtt fél órával hat egeret EUK-134 antioxidáns, hatot pedig PPD42 erősségű fényvédő krémmel kezeltünk. Az egerek bőrének makroszkópos értékelése mellett a különböző mennyiségű sugárzásnak kitett területekről, a hát és a has bőrből, illetve a daganatokból végeztünk szövetminta-vételt, majd a metszetek értékelését végeztük. A daganatképződés mértékének megállapítására a makroszkópos kép alapján, képelemző szoftver segítségével meghatároztuk a daganatok kialakulásának időbeli eloszlását, a kialakult daganatok számát. A kapott eredmények igazolták, hogy a kizárólag 8-MOP krémmel kezelt csoportban szignifikánsan nagyobb számban jelentek papillómák a másik két csoporthoz viszonyítva. A spinocellularis carcinomáknak megfelelő daganatok pedig kizárólag ebben a csoportban alakultak ki, mind az EUK-134, mind a PPD42 erősségű fényvédő krém teljes mértékben megvédte az egereket a malignus bőrdaganatok kialakulásától. Az EUK-134 krémmel és a fényvédővel kezelt csoport között az antioxidánsal kezelt csoportban alakultak ki papillómák nagyobb számban. Eredményeink igazolták, hogy a fotokarcinogenezis kockázata elsősorban a megfelelő fényvédők helyes használatával gátolható meg, ugyanakkor az antioxidáns hatás fokozásával önmagában is jelentősen csökkenthető a fotokarcinogenezis kockázata.

Bolla Beáta Szilvia¹, Tax Gábor¹, Erdei Lilla¹, Urbán Edit dr.², Kemény Lajos dr.^{1,3}, Szabó Kornélia dr.²:

A mikrobiális flóra epidermális barrier funkcióra gyakorolt hatása in vitro tenyésztett keratinocitákban

(SZTE Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged¹, SZTE Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet, Szeged², MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged³)

Az emberi bőr egyik legfontosabb feladata a szervezet védelme a kórokozóktól és a káros környezeti hatásoktól. Bőrünk felszínén különböző baktériumok és mikrobák által kialakított kommenzális flóra található, melynek pontos hatása az epidermális sejtekre és a bőr homeosztázására jelenleg még nem ismert minden részletében. Célunk ezért annak vizsgálata, hogy a kommenzális flóra egyik legfontosabb tagja, a *Propionibacterium acnes* (P. acnes) baktérium, valamint az általa indított gyulladáshoz vezető folyamatok hatással vannak-e az epidermális barrier állapotára. Emellett azt is elemezzük, hogy a baktérium kezelés hatására változik-e a keratinociták közötti szoros sejt-sejt kapcsolatok (tight junction) kialakításában szerepet játszó gének (claudin 1, 2, 4, occludin 1, zonula occludens 1) mRNS szintű kifejeződése.

Vizsgálatainkhoz humán papillóma vírus (HPV) E6/16 onkogén fehérjékkel immortalizált keratinociták (HPV-KER) konfluens kultúráját kezeltünk különböző dózisu, eltérő filogenetikai csoportokba tartozó P. acnes törzsekkel (889, 6609, ATCC11828). A barrier funkció változását valós időben vizsgáltuk az xCELLigence rendszer alkalmazásával. Emellett elemeztük a baktérium hatását a szoros sejt-sejt közötti kapcsolatok (tight junctions) kialakításában szerepet játszó gének (claudin 1, 2, 4, occludin 1, zonula occludens 1) mRNS szintű kifejeződésére valós idejű RT-PCR módszerrel. Eredményeink arra utalnak, hogy baktérium kezelés hatására törzsspecifikus, dózisu függő változások indulnak az epidermális barrier állapotában. Rövid javulás után mindhárom törzs esetében a csökkenő ellenállás a barrier funkciók romlására utal. A HPV-KER sejtekben a CLDN2 és 4 mRNS-ek jelenlétét nem detektáltuk. A P. acnes kezelés hatására a CLDN1 mRNS szintű kifejeződése csökkent, míg az OCL1 és a ZO1 szintje nőtt. Ismert, hogy a baktérium veleszületett immun- és gyulladáshoz vezető folyamatokat indít keratinocitákban, mely események fontos mediátora a tumor nekrozis faktor alfa (TNF α) citokin. A sejteket ezért 1, 5, 10 μ g/ml TNF α -val kezeltük, és a barrier funkcióra gyakorolt hatást az xCELLigence rendszerrel vizsgáltuk. Megfigyeltük, hogy a citokin hatására az epidermális barrier állapota dózisu függő módon romlott. Eredményeink arra utalnak, hogy a P. acnes baktérium közvetlenül és a hatására képződő gyulladáshoz vezető mediátorok révén közvetve is hatással van az epidermális barrier aktuális állapotára és funkciójára. Ezek a folyamatok fontos szerepet játszhatnak a mikroflóra és a humán sejtek közötti diszbiózis létrejöttéhez különböző bőrbetegségek kialakulása során.

Boros Gábor dr.¹, Miko Edit dr.¹, Hiromi Muramatsu dr.², Drew Weissman dr., Emri Eszter dr., Gijbertus van der Horst dr.³, Emri Gabriella dr.¹, Karikó Katalin dr.², Remenyik Éva dr.¹:

Ciklobután pirimidin dimer-vezérelt celluláris folyamatok vizsgálata humán keratinocitákban mRNS-alapú géntranszfer segítségével

(Debreceni Egyetem, Bőrgyógyászati Tanszék, Debrecen¹, University of Pennsylvania, Philadelphia, Egyesült Államok², Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands³)

Az UVB sugárzás által indukált ártalmas biológiai hatások közvetítéséért elsősorban a ciklobután pirimidin dimer (CPD) fototermekeket teszik felelőssé, amelyek hozzájárulása a sejtek génteressziós és funkcióbeli változásaihoz még nem tisztázott. Korábban bemutattunk egy olyan modellrendszert, amelyben a CPD-fotoliáz kódoló, in vitro-szintetizált mRNS transzfecciója humán keratinocitákba az UVB-indukált CPD léziók több mint 90%-os csökkenéséhez vezetett. Ez az in vitro modell alkalmas a CPD-függő és -független celluláris folyamatok elkülönítésére. Microarray elemzésének segítségével karakterizálni tudtuk a CPD-kapcsolt transzkripcionális válaszokat. Összesen 2370 UVB szabályozott gént azonosítottunk, amelyek közül 1141 gén CPD-k miatt aktiválódott vagy represszáldott. Génkapcsolati hálózatok elemzéséből kiderült, hogy az UVB által indukált CPD-k jelentős hatással bírnak a sejt-ciklust és génteressziót szabályozó mechanizmusokra 6 órával a besugárzást követően, míg 24 órával az irradáció után a regenerációt szabályozó folyamatok aktivációja került előtérbe. Másrészt azonosítottunk két sejtciklus szabályozó gént, CCNE1 és CDKN2B, amelyeknek igazolni tudtuk CPD-függőségét humán keratinocitákban UVB sugárzásra adott sejtválasz kapcsán. Mind az mRNS, mind a fehérje expressziós szintjük jelentős növekedést mutatott UVB expozíció után, amely változás a fotoreaktivációt követően nem volt megfigyelhető a fotoliáz mRNS-sel transzfecciózt sejtben. Ezen túlmenően, Jun kináz inhibitorral kezelt sejtek western blot analízise bizonyítékot szolgáltatott, hogy mindkét gén UVB-indukált overexpressziója erősen függ a Jun kináz útvonal aktivációjától. Ennek a kísérleti modellrendszernek az alkalmazása lehetőséget nyújt új és specifikus molekuláris célpontok azonosítására az UVB által közvetített bőrbetegségek vonatkozásában.

TÁMOP- 4.2.2.A- 11/1/KONV-2012-0031 OTKA K105872