

Doktori értekezés tézisei

**Humán antimikrobiális immunválasz vizsgálata kísérletes és  
bioinformatikai módszerekkel**

**Dr. Kristóf Katalin**

Témavezet : Dr. Bajtay Zsuzsa PhD, egyetemi docens

Biológiai Doktori Iskola, Immunológia Program

Programvezet : Prof. Dr. Erdei Anna, egyetemi tanár

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar  
ELTE Biológiai Intézet, Immunológiai Tanszék

2013.

## Bevezetés

A súlyos, életet veszélyeztető fertőzések a fejlődő intenzív terápiás lehetőségek ellenére napjainkban is komoly problémát okoznak mind orvos-szakmailag, mind az egészségügyi költségvetés szempontjából. Az eredmények javításának egyik fontos feltétele lenne a sepsis immunológiájának jobb megértése, mely újabb lehetőségeket adhatna a folyamatba való beavatkozásra.

Már a '80-as években világossá vált a bélnyálkahártya kiemelten fontos szerepe a sepsis kórleletében, melyet eredetileg úgy képzeltek el, hogy a baktériumok transzlokációja a kritikus állapotú beteg sérült bélnyálkahártyán keresztül az immunológiailag túlterhelt szervezet szövetei felé önrontó körként súlyosbítaná a betegséget. Az elmúlt időszak intenzív kutatómunkájának eredményeként a bélnyálkahártya és az intestinalis flóra sepsisben játszott szerepéről sokat gyarapodtak ismereteink. Kiderült, hogy sok baktérium aktívan reagál környezetére állapotára, és veszélyeztetett állapotban virulenciagéneket kapcsol be. Egyes ischaemia-reperfúziós károsodást vizsgáló tanulmányok pedig felhívták a figyelmet arra, hogy bizonyos stressz-szituációk esetén a bélnyálkahártyában olyan mediátorok jelenhetnek meg, melyek a nyirokkal

elvezetnek, és többszervi diszfunkció kialakulásához járulnak hozzá.

A klasszikus immunológiából ismert jelenség, hogy a lymphocyták antigén-specificitása nem abszolút, hiszen azonos vagy nagymértékben hasonló epitópok különböző struktúrákon is megtalálhatók lehetnek. A jelenség molekuláris mimikri néven ismert, és újabb adatok szerint – legalábbis ami a lineáris epitópok között megvalósuló, T-sejtek részvételével történő mimikrii – meglehetősen gyakori jelenség. Ismerve a bélnyálkahártyának a sepsis kórleletében játszott szerepét a szóló újabb eredményeket, felmerült annak lehetősége, hogy a kórokozó flóra ellen indukált T-lymphocyták – a patogének és az intestinalis baktériumok közötti molekuláris mimikri révén – szekunder gyulladást okozhatnának a bélnyálkahártyában, mely súlyosbíthatja a sepsis lefolyását, illetve rontja annak kimenetelét.

A gastrointestinumban folyó jelenségek mellett sepsisben további komoly problémát jelent a betegek immunológiai kimerülése, és ehhez kapcsolódóan a szekunder infekciókra való fokozott hajlam. A probléma immunológiai háttere egyelőre részleteiben nem ismert, az azonban kiderült, hogy septicus betegekben a dendritikus sejtek működése zavart szenved. Egyes eredmények szerint a monocyták eredetű dendritikus sejtek

sepsisben nagy arányban tolerogén módon differenciálódnak, és szintén tolerogén vagy anergiás T-sejteket indukálnak. Ez a tény különösen figyelemre méltó, ha figyelembe vesszük, hogy a dendritikus sejtek egészen kivételezett helyet foglalnak el az immunrendszerben, hiszen egyedül képesek naiv T-sejtek aktiválására, így alapjaiban alakítják az adaptív immunválasz egészét. A dendritikus sejtek funkciózavarának pontos oka septicus betegekben egyelőre nem ismert, de egyes adatok felvetették a CR3 komplementreceptor potenciális szerepét a sejtcsoport toleralizálásában, ami további kutatások szükségességét vetíti elő.

## Célkit zések

- Matematikailag megbecsültük az azonosított kórokozó flóra és az intestinalis mikrobák közötti T-sejtes mimikri mértékét pneumonia eredet sepsisben.
- Bevezettük az inflammációs kvóciens fogalmát, mely megbecsli, hogy a kórokozó-specifikus T-lymphocytá molekuláris mimikri révén várhatóan milyen mérték szekunder gyulladást lehet képes okozni a bélnyálkahártyában a pathogén és a kommenzális flóra immunológiai hasonlósága miatt.
- Tanulmányoztuk betegeinkben az azonosított pathogének és a bélbaktériumok közötti T-sejtes molekuláris mimikri, valamint az APACHE II betegség súlyossági pontszám illetve a betegség kimenetele közötti összefüggést.
- Összevetettük az egyes kórokozóknak az intestinalis mikrobiális közösség felé mutatott T-sejtes mimikrihajlamát az általuk okozott sepsisre vonatkozó nemzetközi mortalitási adatokkal.
- Jellemeztük a komplementreceptorok expresszióját humán monocytá eredet érett és éretlen dendritikus sejteken.

- Vizsgáltuk az iC3b és iC3b-vel opsonizált részecskék dendritikus sejtek általi felvételét, valamint a CR3 és CR4 receptorok szerepét a folyamatban.
- Elemeztük a CR3 és CR4 receptorok által közvetített jelek hatását a dendritikus sejtek citokinteremlésére és T-sejt aktiváló képességére

## **Módszerek**

- Septicus pneumoniás betegek klinikai adatainak feldolgozása
- Molekuláris mimikri valószínűségének matematikai becslése a Ristori és munkatársai által publikált algoritmus alapján
- Humán sejtek tenyésztése
- Áramlási citometria
- Phagocytotikus index meghatározása
- RNS-silencing technika
- Lézerpásztázó konfokális mikroszkópia

- MLR teszt
- ELISA
- Statisztikai értékelés

## **Eredmények**

- Korrelációt találtunk az azonosított kórokozó flórára számított inflammációs kvóciensek valamint az APACHE II betegség súlyossági pontszámok között septicus pneumoniás betegekben.
- Az azonosított pathogén flórára kiszámított inflammációs kvóciensek szignifikánsan magasabbak voltak a pneumonia eredet sepsisben elhunyt betegcsoportban a túlélőkhöz viszonyítva.
- Korrelációt találtunk az egyes kórokozókra kiszámolt inflammációs kvóciensek és az általuk okozott sepsisre vonatkozó nemzetközi mortalitási adatok között.
- Megállapítottuk, hogy a humán monocyta eredet dendritikus sejtek érése során a CR3 sejt felszíni expressziója csökken, a CR4-é növekszik.

- Eredményeink alapján az iC3b-vel opszonizált részecskék phagocytosisában a CR3 kiemelt jelentősége egyértelmű a CR4-gyel szemben.
- Azt találtuk, hogy a CR3 ugyan komoly szerepet játszik a komplementtel opszonizált antigének phagocytosisában, de nem befolyásolja a dendritikus sejtek differenciációját, sem citokintermelésüket, sem T-sejt aktiváló képességüket.

### **Az értekezéshez kapcsolódó saját közlemények**

Kristóf K, Madách K, Sándor N, Iványi Z, Király A, Erdei A, Tulassay E, Gál J, Bajtay Z Impact of molecular mimicry on the clinical course and outcome of sepsis syndrome. *Molecular Immunology* **49**(3): pp. 512-517. (2011)

IF: 2.897

Sándor N, Kristóf K, Parej K, Pap D, Erdei A, Bajtay Z CR3 is the dominant phagocytotic complement receptor on human dendritic cells. *Immunobiology* **218**(4): pp. 652-663. (2013)

IF: 3.205

Madách K\*, Kristóf K\*, Tulassay E, Iványi Z, Erdei A, Király A, Gál J, Bajtay Z Mucosal Immunity and the Intestinal Microbiome in the Development of Critical Illness. *ISRN Immunology* **2011**: Paper 545729. 12 p. (2011)

\* Megosztott első szerzők

Kristóf K, Erdei A, Bajtay Z Set a thief to catch a thief: Self-reactive innate lymphocytes and self tolerance. *Autoimmunity Reviews* 7(4): pp. 278-283. (2008)

IF: 5.371

## Egyéb közlemények

Iványi Zs, Valkó L, Hauser B, Kristóf K, Hargitai Z, Lorx A, Madách K, Gál J Experiences of the Department of Anesthesiology and Intensive Therapy of Semmelweis University during the 2009 pandemic H1N1 (pH1N1) influenza outbreak *Interventional Medicine & Applied Science* 2:(2) pp. 59-65. (2010)

Kristof K, Madach K, Czaller I, Bajtay Z, Erdei A Mathematical analysis of clinical data reveals a homunculus of bacterial mimotopes protecting from autoimmunity via oral tolerance in human. *Molecular Immunology* 46:(8-9) pp. 1673-1678. (2009)

IF: 3.202

Varga L, Szeplaki G, Laki J, Kocsis A, Kristof K, Gal P, Bajtay Z, Wieslander J, Daha MR, Garred P, Madsen HO, Fust G, Farkas H Depressed activation of the lectin pathway of complement in hereditary angioedema. *Clinical and Experimental Immunology* 153:(1) pp. 68-74. (2008)

IF: 2.853

Csomor E, Bajtay Zs, Sándor N, Kristóf K, Arlaud GJ, Thiel S, Erdei A Complement protein C1q induces maturation of human dendritic cells. *Molecular Immunology* 44:(13) p. 3389. (2007)

IF: 3.742