

SZOLUBILIS IMMUNMEDIÁTOROK ÁLTAL INDUKÁLT EXTRACELLULÁRIS VEZIKULÁK LEHETSÉGES SZÖVETKÁROSÍTÓ HATÁSA

Viktória Szeifert¹, Ákos M. Lőrincz¹, Noémi Sándor², Ágnes Kittel³, András Ács⁴, László Drahos⁴, Mihály K. Józsi², Erzsébet Ligeti¹

¹Fagocitaélettani Kutatócsoport, Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem

²H-faktor és komplement szabályozás Kutatócsoport, Immunológiai Tanszék, ELTE

³Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, MTA

⁴Proteomikai Kutatócsoport, Szerves Kémia Intézet, MTA

Bevezetés: Munkacsoportunk korábban három populációját különítette el a neutrofil granulocitákból származó extracelluláris vezikuláknak (EV): spontán képződött vezikulák (sEV), opszonizált partikulákkal történő aktivációt követően lefűződő, antibakteriális hatással rendelkező vezikulák (aEV) és apoptózis során keletkező vezikulák (apoEV). Célkitűzésünk az volt, hogy vizsgáljuk különböző immunmediátorok (TNF- α , C3bi) hatását a különböző PMN EV populációk képződésére, tulajdonságukra, illetve esetleges szövethárosító hatásukra.

Módszer: Egészséges donorok perifériás véréből két lépcsős centrifugálással izoláltunk PMN-eket. Az EV-k morfológiáját és méretét transzmissziós elektronmikroszkópiával vizsgáltuk. Az EV-termelést áramlási citometriával számszerűsítettük. Az EV-k fehérjetartalmát Bradford assay segítségével határoztuk meg, illetve a fehérjék minőségét LC-MS/MS-el határoztuk meg. Az EV-k funkcionális vizsgálata során GFP-t expresszáló *S. aureus* törzsek baktériumtúlélését vizsgáltuk párhuzamosan optikai denzitás követésén alapuló és az általunk korábban publikált áramlási citometria alapú méréssel.

Eredmények: TNF- α előkezelés nem okozott változást az EV-k morfológiájában, de a vezikulák mérete a kisebb mérettartomány irányába mozdult el. Ez az előkezelés önmagában emelte a spontán EV termelést is, úgy hogy az EV-k fehérjetartama nem változott, azonban az aEV termelést nem emelte tovább. Ezért a korábban megfigyelt aEV/sEV hányados csökkent. A TNF- α emelte a granulum-fehérjék arányát az sEV-kben, és még nagyobb mértékben az aEV-k esetén. Az önmagában TNF- α előkezelés hatására képződött vezikulák antibakteriális hatást nem mutattak, és nem potenciózták tovább az aEV-k hatását sem. A C3bi-vel coatolt felszínen az aEV-knek megfelelő mértékben emelkedett a sejtek EV termelése mind szám, mind fehérjemennyiség tekintetében, azonban szolubilisen alkalmazva nem tapasztaltunk dózisfüggő emelkedést az EV termelésben.

Konklúzió: Az eredmények alapján úgy tűnik, hogy a TNF- α hatása a humán neutrofil granulociták EV termelésére jelentősen függ a második aktivátor (opszoninok) jelenlététől. A C3bi-vel kapott első eredményeink alátámasztják a Mac-1 központi szerepét a PMN-ek aEV termelésében, azonban további funkcionális vizsgálatok szükségesek annak érdekében, hogy megtudjuk, hogy a Mac-1-en történő aktiváció önmagában is elegendő-e az aEV típusú vezikula-termeléshez.