

**FERTŐZÉSEK ÉS ATHEROSCLEROSIS:
CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE PERZISZTENCIA
EGÉRMODELLEN, *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* ÉS HUMÁN
CYTOMEGALOVÍRUS KAPCSOLATA AZ EMBERI DENDRITIKUS
SEJTEKKEL**

Doktori (Ph. D.) értekezés tézisei

KIS ZOLTÁN

Országos Epidemiológiai Központ
Virologiai Főosztály

és

Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet
Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Budapest – Szeged

2008.

Bevezetés

A klasszikus rizikófaktorokon kívül fertőzéseknek, immunbiológiai reakcióknak és génpolimorfizmusoknak is szerepük lehet az atherosclerosis (AT) kialakulásában, súlyosbodásában. A bizonyítékok sokrétűek: mikroorganizmusokat mutattak ki AT plakkokból, egyes fertőző ágensek elleni magasabb ellenanyagszint jellemezte a betegségben szenvedőket az egészségesekhez viszonyítva, fertőzésekkel állatkísérletekben az emberi AT plakkokhoz hasonlóakat tudtak előidézni. A legtöbb bizonyíték a *Chlamydomphila pneumoniae* (*Cpn*) obligát intracelluláris baktérium és a herpeszvírusok közé tartozó humán cytomegalovírus (HCMV) mellett szól. Kutatócsoportunk egér cytomegalovírussal fertőzött egereket, majd *Cpn*-val történő felülfertőzés után az aorta falmegevastagodásának és gyulladásának szövettani jeleit tapasztalta. Egy másik tanulmányunkban mind *Cpn*-t mind HCMV-t ki tudtunk mutatni emberi carotis plakkokból. A kórokozók nem szaporodó vagy szaporodó formában jelen lehetnek nemcsak az érfalat alkotó simaizom- és endotélsejtekben, hanem az ugyanitt fellelhető limfocitákban, makrofágokban, dendritikus sejtekben (DSk) is. A DSk, mint egyes immunfolyamatok elindítói, különleges figyelmet érdemelnek, mert az AT plakkokban gyakrabban fordulnak elő a környező, egészséges érszakaszokhoz viszonyítva. Érdekes, hogy igen fiatal gyerekekből származó artéria carotis azon részeiben, ahol az érszakasz fokozottabb nyomásnak van kitéve, az ér falában halmozottan mutattak ki mononukleáris sejteket, így DSk-et is.

Fontos megemlíteni, hogy vannak olyan tanulmányok, amelyek szerint nincs kapcsolat a patogének és az AT között. Ez magyarázható a betegség rendkívül komplex patomechanizmusával, a populációnak az említett mikroorganizmusokkal való nagyfokú fertőzöttségével és a vizsgálatokban használt módszerek gyakran nem standardizált jellegével.

Kutatócsoportunk a fertőzések és gyulladások szerepét vizsgálja az érlemezés kialakulásában, súlyosbodásában. Doktori munkám során az ismételt *Cpn* fertőzés biológiáját és immunológiáját tanulmányoztuk egér

modellen, valamint a *Cpn* és a HCMV kapcsolatát az emberi myeloid eredetű DSk-vel.

Chlamydomphila pneumoniae

A *Cpn* a légúti fertőzések széles skáláját okozza, a tünetmentes formától a tüdőgyulladásig. Az ellenanyagok, amelyek szintje populációs szinten a gyakori újrafertőzések miatt az életkor előrehaladtával folyamatosan nő, nem védenek meg az újrafertőzéstől. Számos adat utal arra, hogy a *Cpn* képes perzisztens fertőzések kialakítására. A chlamydiák perzisztenciájára az élő, de nem tenyészthető forma a jellemző. Fogékony sejtekben *in vitro* perzisztenciát többféleképpen lehet kialakítani, többek közt a sejtek interferon- γ (IFN- γ) kezelésével. Ilyenkor a chlamydiális zárvány alakja eltér a normálistól és egyes bakteriális gének szabályozása is megváltozik. A baktérium a légutakból valószínűleg a vérárammal jut el perzisztencia helyére. Ezt bizonyítja, hogy *Cpn* DNS-t sikerült fehérvérsejtekben kimutatni. Egérkísérletekben egyszeri és ismételt fertőzést követően a *Cpn* örökítőanyaga kimutatható volt a tüdőben és a fehérvérsejtekben, de a mi vizsgálataink előtt nem volt ismert, hogy mennyi ideig és mekkora számban van jelen a baktérium ezen sejtekben.

Humán cytomegalovírus

A HCMV-sal történő fertőződés legtöbbször tünetmentes, de egészséges immunrendszerrel rendelkező egyéneknél is okozhat mononucleosis infectiosa betegséget. Immunológiailag károsodott egyéneknél többféle súlyos megbetegedést és terhes anyákat ért – főleg primer – fertőzések esetén magzati rendellenességeket okozhat. A vírus szigorúan gazdaspecifikus, csak emberi sejteket tud megfertőzni és azokban szaporodni. A lakosság 50-80%-a fertőződött, a vírus a fertőzött egyéneknél élethosszig tartó perzisztenciát alakít ki időszakos reaktivációval. A látencia helyét valószínűleg a vérképző rendszer myeloid eredetű sejtjei alkotják, mint pl. a monociták vagy a DSk. Bár sok sejt típust képes megfertőzni a HCMV,

nem tud mindegyikben szaporodni. Ennek oka, hogy az úgynevezett “igen korai” (major immediate early) génje gátlás alá kerül. A gén kifejeződése a nagyon erőteljes promóter szabályozása alatt áll. A promóter aktivitását sejtes és virális fehérjék befolyásolják.

Myeloid dendritikus sejtek általános tulajdonságai

A DSk tovább már nem osztódó professzionális antigén bemutató sejtek, kiemelt szerepük van az immunválasz elindításában. Folyamatosan képződnek a csontvelői őssejtekből és alakjuk, szöveti megoszlásuk, felszíni molekuláik valamint funkciójuk szerint több csoportba oszthatók. A myeloid sejtvonalhoz tartozó DSk éretlen formában megtalálhatók az epidermisben, dermisben, vérben és a szövetek között. Itt antigéneket vesznek fel, majd az érési folyamat részeként a nyirokcsomókba vándorolnak, miközben felszíni molekuláik kifejeződése megváltozik. Legfontosabb feladatuk a naiv T sejtek aktiválása, így az elsődleges immunválasz elindítása.

Rendkívül sokszínű a DSk kapcsolata a vírusokkal, intracelluláris baktériumokkal. Így például az influenza vírusa sokszorozódik a DSk-ben, a vírus antigénjei kifejeződnek és ellenük immunválasz alakul ki. Más mikroorganizmusok nem, vagy csak gyengén szaporodnak a DSk-ben. Szerepük lehet bizonyos kórokozók emberi szervezetben történő szétterjedésében. A kanyaró vírusa sokszorozódik a DS-kben, ellene ugyan hatékony az immunválasz, de más mikroorganizmusokkal szemben gátolt, tehát immunszuppressziót okoz. Egyes patogének a DSk MHC-I és MHC-II kifejeződését gátolják. A DSk képesek felvenni és a T sejteknek bemutatni a szomszédos apoptotizált sejteket és mikrobiális antigéneket, ezáltal immunválaszt elindítani. A DSk néhány vírus látencia helyéül is szolgálnak és egyes krónikus fertőzésekben az autoimmunitás beindításához és / vagy fenntartásához járulhatnak hozzá.

Dendritikus sejtek és a *Chlamydomphila pneumoniae* kapcsolata

Nem kellőképpen tisztázott a *Cpn* kapcsolata a monocitákkal, monocitákból származó DSk-vel és makrofágokkal. Egyes kutatók monocitákban, monocita eredetű makrofágokban 120 órával a *Cpn*-val történő *in vitro* fertőzés után már nem tudták a baktérium szaporodását vagy fokozottabb antigén kifejeződését kimutatni. Más vizsgálatok szerint, emberi monocita eredetű DSk-ben a fertőzés után 24 napig fertőző részecskék és chlamydiális mRNS-ek, fehérjék vannak jelen, azonban ezek mennyiségét még nem mérték. Szintén nem ismert a *Cpn* antigént tartalmazó DSk fenotípusa. Az emberi DSk IFN- γ termelő képessége a legújabb kutatások tárgyát képezi.

Dendritikus sejtek és a humán cytomegalovírus kapcsolata

Míg monocitákban, makrofágokban a HCMV fertőzés folyamata viszonylag jól ismert, kevés adat áll rendelkezésünkre a HCMV és a DSk kapcsolatáról. A vírus DNS-ét - kis százalékban ugyan - de kimutatták egészséges szeropozitív emberek DSk-eiben és myeloid előalakjaiban. Feltételezik, hogy ezek a sejtek a látencia helyei. Az endotél sejthez adaptált HCMV sokszorozódik a DSk-ben, de gátolja a fertőzött sejtek érését, az MHC-I és MHC-II rendszeren megvalósuló antigén bemutatást, co-stimulációs molekulák kifejeződését és csökkenti egy másik vírusra adott specifikus sejt-toxikus limfocita aktivitást. Azonban a szomszédos fertőzetlen DSk képesek felvenni a virális fehérjéket és aktiválódni. Ugyanakkor a humán fibroblaszt sejtekhez adaptált HCMV törzsek képtelenek sokszorozódni a DSk-ben, de hatékony vírusspecifikus T sejt választ váltanak ki. A DSk érését nem csak a fertőzött sejtek felülúszójában lévő serkentő molekulák, de virális antigének is okozhatják.

Célkitűzések

Annak vizsgálata, hogy

1. Egérmodellben egyszeri és ismételt *Cpn* fertőzés hatására hogyan alakul ki a bakteriális perzisztencia.
2. Milyen a *Cpn* szaporodása emberi éretlen DSk-ben, mely sejtekben található a *Cpn* antigének az érés során, hogyan alakul egyes chlamydiális gének kifejeződése a DSk-ben, és mennyi azok mennyisége. A *Cpn* fertőzés hatására bekövetkezik-e a DSk-ben az IFN- γ termelődés, és ez hogyan hat a baktérium szaporodására.
3. Egy újonnan izolált és fibroblaszton tízszer passzált HCMV törzs (HCMV-Oslo) képes-e szaporodni az éretlen DSk-ben? A vírus hogyan hat a sejtek érésére, miként változik egyes fontos felszíni molekulák kifejeződése és befolyásolja-e a fertőzés a DSk T limfocitákat serkentő képességét. A HCMV-vel fertőzött fibroblaszt sejtekről származó korai (24 órás) illetve késői (7-9 napos) felülúszó egyforma hatékonysággal idézi-e elő a DSk érését, valamint ehhez szükségesek-e a virális partikulumok.

Anyagok és módszerek

A *Cpn*-t (TW-183 törzs) McCoy sejteken felszaporítottuk, részlegesen tisztítottunk és koncentráltuk, titerét HEp-2 sejtvonalon határoztuk meg 48 órával a fertőzés után indirekt immunofluoreszcencia (IF) módszer segítségével. Kontrollként fertőzetlen sejtek hasonlóan készült lizátumát (mock preparátum) használtuk. A BALB/c egereket 1-szer, 2-szer vagy 3-szor orrukon keresztül $7,5 \times 10^5$ zárványképző-egységgel (IFU) fertőztük. A fertőzések között 8 hét telt el. Egy, 2 nap, 1, 2, 4, 8 hét elteltével az egereket feldolgoztuk. A tüdőből a baktérium tenyésztését McCoy sejten végeztük. A tüdőből, a vérből és a lépéből történő DNS kimutatásra nested polimeráz láncreakciót (PCR), mennyiségének mérésére valós idejű PCR-t használtunk,

részben irodalmi, részben saját tervezésű primerekkel. A HCMV-Oslo törzset Dr. Degré Miklós professzortól kaptuk. A törzzsel emberi magzati fibroblaszt sejteket (MRC-5) fertőztünk és 24 óra (korai felülúszó) illetve 9 nap múlva (a 7. napon a sejteken lecseréltük a tápfolyadékot, késői felülúszó) begyűjtöttük, majd ultracentrifugálással egy részét tisztítottuk. Ultracentrifugálás után kevesebb mint 1 fertőző vírus/ml volt jelen a felülúszóban. A myeloid sejtvonalhoz tartozó monocita eredetű DSk-et buffy coat-ból kitapadásos módszerrel és 7 napos citokin kezeléssel nyertük. A felszíni molekulák kifejeződését, illetve annak mértékét monoklonális ellenanyagok segítségével, direkt IF-val és áramlási citometriával vizsgáltuk. A DSk-et *Cpn*-val 2 IFU/sejt koncentrációban fertőztük, a bakteriális antigént monoklonális ellenanyagokkal és indirekt IF-val mutattuk ki. A DSk-ben található fertőző *Cpn* meghatározása HEp-2 sejtvonalon történt. A DSk funkcionális érettségét, azaz a sejtek limfocita aktiváló képességét egyrészt az aktiválódott limfociták IFN- γ termelése, másrészt az osztódó limfocitákba történő bromdeoxyuridin beépülés mérésével ellenőriztük. A baktérium *16S RNS*, *groEL*, *omcB* és *ftsK* génjeinek mRNS kifejeződését, illetve annak mértékét valós idejű PCR-rel SYBR Green segítségével mértük. A DSk felülúszójában lévő IFN- γ -t ELISA módszerrel, a sejtekben termelődött IFN- γ -t monoklonális ellenanyagok segítségével, direkt IF-val és áramlási citometriával vizsgáltuk. A DSk-et a különböző időpontokban HCMV-vel fertőzött MRC-5-ről begyűjtött felülúszóval kezeltük. A DSk-ben esetlegesen képződött infektív vírus kimutatásához MRC-5 sejtekre oltottuk le a felülúszót. A virális antigének DSk-ben valamint MRC-5 sejtekben való jelenlétét direkt IF-val ellenőriztük.

Eredmények

***Chlamydomphila pneumoniae* szaporodás tanulmányozása egérmodellen**

Élő *Cpn* kimutatása a tüdőben

Az újrafertőzések során a kísérleti állatokon egyre enyhébb klinikai tünetek jelentkeztek. Egyszeri fertőzés után az állatok tüdejéből 2, 7 és 14 nap múlva tudtuk az élő baktériumot kitenyészteni, ismételt fertőzéseknél ez csak a 2 napos minták esetében sikerült.

Bakteriális DNS kimutatása és mennyiségének mérése a tüdőben, a vérben és a lépben

Az első fertőzést követően 4 hétig, ismételt fertőzések esetében csak 1 hétig minden egér tüdejéből kimutatható és mennyiségileg meghatározható volt a *Cpn* DNS, tehát a bakteriális DNS tüdőből való eltávolítása nem volt olyan hatékony, mint az élő baktériumé. Az első fertőzés után 1 héttel kb. százszor nagyobb volt a bakteriális DNS mennyisége az első naphoz viszonyítva ($3,8 \times 10^9$ vs. $3,8 \times 10^7$). Ugyanakkor ismételt fertőzések esetében ez az érték kb. százszor kisebbnek adódott az első napi értékhez viszonyítva ($5,6 \times 10^4$ vs. $5,4 \times 10^6$). Minden kísérleti állat vérében az első fertőzést követően 1 héttel, ismételt fertőzés esetén 2 nappal, sikerült a *Cpn* DNS-t kimutatni, bár mennyiségi különbséget az egyszer vagy többször fertőzött állatokban nem találtunk. Érdekes és fontos, hogy egyszeri fertőzést követő 10, 18 és 49 héttel néhány egér vérében (3/18) jelen volt a *Cpn* DNS-e, jelezvén, hogy a vér sejtes elemei a *Cpn* perzisztencia és látencia forrása lehetnek. Lépből fertőzéstől függetlenül csak szórványosan volt kimutatható a bakteriális örökítőanyag.

A *Chlamydomphila pneumoniae* és a humán DSk kapcsolata

Fertőző *Cpn* elementáris testek a DSk-ben

Éretlen DSk-et fertőztünk eltérő koncentrációjú *Cpn*-val, különböző időpontba begyűjtöttük és feltártuk a sejteket, majd HEp-2 sejtvonalon meghatároztuk a fertőző részecskék számát. Míg 24-48 óra múlva minden egyes DS kultúrából, addig 72-96 órával a fertőzés után már csak a DS kultúrák egy részéből (2/5) sikerült fertőző baktériumokat kimutatnunk. Mivel nem találtunk exponenciális növekedést a DSk-ben, ez az esetleges perzisztenciára vagy a baktérium alkalomszerű szaporodására utalhat.

DSk érése, funkcionális aktiválódása *Cpn*-val történő kezelés hatására

Éretlen DSk-et fertőztünk *Cpn* és mock preparátummal, majd 3 nap múlva mértük a felszíni molekulák kifejeződését. A CD83 és a CD86 molekulák a *Cpn*-val fertőzött sejtek nagyobb százalékán jelentek meg a mock preparátummal kezelt sejtekhez viszonyítva (CD83: 68% vs. 2,2%; CD86: 75,2% vs. 11,8%). A CD11c és HLA-DR molekulák minden sejten jelen voltak, de különbség volt a mennyiségében a *Cpn*-val fertőzött sejtek javára (intenzitás egységben mérve CD11c: 957 vs. 620; HLA-DR: 4353 vs. 2795). A donor *Cpn*-specifikus szerológiai állapota nem befolyásolta az eredményeket. Mind a CD83 pozitív és negatív, mind a CD86 pozitív és negatív, mind a HLA-DR pozitív és mindhárom felszíni molekulára pozitív sejtekben megtaláltuk a *Cpn* antigéneket, jelezvén, hogy a bakteriális antigének előfordulása a DSk érési állapotától független. A funkcionális érettséget bizonyítandó, az érett DSk-hez ugyanabból a donorból származó limfocitákat adtunk, majd 5 nap múlva mértük az aktiválódott limfociták számát. A *Cpn*-val kezelt DSk jobban stimulálták a CD4+ és CD8+ limfocitákat a mock kezelt DSk-vel összehasonlítva (CD4+: 9,8% vs. 3,2%; CD8+: 5,6% vs. 2,6%). Ugyanakkor a szeronegatív donorból származó limfocitákat a DSk nem tudták stimulálni a kísérlet időtartama alatt. A *Cpn* DSk-re gyakorolt hatásának mechanizmusa nem világos. Mások vizsgálatait szerint chlamydiális hsp60

hasonlóan erős érési folyamatokat idéz elő, és az aktivált limfociták által termelt anyagok szintén képesek a DSk érését elősegíteni. A DSk érésében vagy a baktérium DSk-re gyakorolt direkt hatásainak, vagy az *in vitro* DS kultúrában esetleg jelen lévő más sejtek által termelt anyagoknak, vagy mindkettőnek szerepe lehet.

Egyes Cpn gének kifejeződése és annak mértéke a DSk-ben

Mennyiségileg mértük a *Cpn*-val fertőzött DSk-ben a bakteriális 16S RNS, *GroEL*, *omcB*, *ftsK* gének mRNS kifejeződését. A 16S RNS kópiaszám vagy állandó szinten volt, vagy minimális (<10x) csökkenésen ment keresztül a 7 napos megfigyelési időszak alatt. A *groEL* és *omcB* gének kifejeződése 24-72 óráig emelkedett, majd csökkent, de végig a kimutathatósági határ felett volt. Az *ftsK* a donorok egy részében a kimutathatósági határon, más részükben ez alatt volt. Kizártuk, hogy a kimutatott géntermékek a szennyezésként jelenlévő limfocitákban keletkeznek. A kontrollként használt HEp-2 sejtekben a vizsgált gének, beleértve az *ftsK*-t is, végig kifejeződtek. Egyes gének korlátozott kifejeződése, illetve a fertőző *Cpn* részecskék alkalmankénti megjelenése a DSk-ben azt jelenheti, hogy a DSk szerepet játszanak a krónikus *Cpn* fertőzés kialakulásában. Valószínűleg állandó antigén ingert biztosítanak a DS közelében lévő egyéb, gyulladásban szerepet játszó sejteknek. Mivel a DSk az élő baktériumok forrásai lehetnek, így hozzájárulhatnak a fertőzés szervezetben történő szétszóródásához is.

IFN- γ termelődés a DS kultúrában, a termelődött citokin semlegesítésének hatása.

Számos irodalmi adat szól arról, hogy egyes citokinek (IFN- γ , TNF- α) képesek chlamydiális perzisztenciát előidézni fogékony sejtekben. *Cpn*-val és mock-preparátummal kezelt DS kultúra felülúszóját 10 napon keresztül minden nap begyűjtöttük és ELISA módszer segítségével mértük annak IFN- γ tartalmát. Az IFN- γ koncentrációja az 5. napon volt a legnagyobb, ezt követően folyamatosan csökkent. Sejt szinten is sikerült bebizonyítanunk,

hogy a szennyezőként jelenlévő limfociták mellett a DSk is képesek az IFN- γ termelésére. IFN- γ elleni ellenanyagokkal hatástalanítottuk a fertőzött DS kultúrák felülúszójában lévő IFN- γ -t, de *Cpn* szaporodást így sem tudtunk mérni, jelezve, hogy a baktérium szaporodásának gátlásában nem a jelenlévő IFN- γ a döntő tényező. Neutralizáltuk a TNF- α -t is és együtt mindkét citokint, de eredményeink lényegesen nem változtak.

Dendritikus sejtek kapcsolata a humán cytomegalovírus-Oslo törzssel

A HCMV-Oslo törzs szaporodása a DSk-ben

A HCMV-Oslo törzssel fertőzött DSk-en a kísérlet 10 napos periódusa alatt nem észleltünk citopátiás hatást. A fertőzéstől számított 7 illetve 10 nap múlva a fertőzött DSk-ről származó felülúszót, vagy a fertőzött DSk-et MRC-5 sejtekre helyeztük, és a 14 napos megfigyelési időszak alatt citopátiás hatást nem észleltünk és direkt IF-val sem tudtunk HCMV „igen korai” antigén-t kimutatni.

HCMV-vel fertőzött MRC-5 kultúrákról származó korai és késői felülúszók hatása a DSk érésére

DSk-re HCMV-vel fertőzött MRC-5 sejtekről származó korai vagy késői felülúszóját tettük és 3 napig inkubáltuk. A vírussal fertőzött fibroblasztokról származó felülúszók jobban fokozták a DSk-en a CD86, CD83, CD40 és HLA-DR molekulák kifejeződését, mint a mock felülúszók. Ultracentrifugálással vírusrészecske-mentesített felülúszókkal hasonló eredményre jutottunk. A donorok szerológiai állapota itt sem befolyásolta a kísérletek kimenetelét. Eredményeink azt jelzik, hogy a fibroblasztról származó korai és késői HCMV felülúszók olyan faktorokat tartalmaztak, amelyek elősegítették a DSk érését, és ehhez nem volt szükség a vírusrészecskére.

A korai vagy késői felülúszóval kezelt DSk funkcionális érése

A felülúszók közül csak a késői HCMV felülúszó tudta szeropozitív emberekben a saját CD4+ és CD8+ limfocitákat IFN- γ termelésére serkenteni, a korai felülúszó erre nem volt képes. Ha azonban a korai HCMV felülúszót

kiegészítettünk idegen antigénnel, pl. UV-inaktivált *Cpn*-val, akkor a DSk képessé váltak a *Cpn*-szeropozitív egyének limfocitáiban citokin termelést kiváltani. Ez azt bizonyítja, hogy a korai felülúszó is funkcionálisan éretté teszi a DSk-et.

Eredményeink szerint legalább két különböző alkotórész van jelen a késői felülúszóban: 1. szöveti faktorok, amelyek elősegítik a DSk érését; 2. vírusrészecskék, vírusfehérjék, amelyeket a sejtek felvesznek, feldolgoznak és bemutatnak a limfocitáknak. A korai felülúszó hasonlóan segítette elő a felszíni molekulák fokozottabb expresszióját, és ha kiegészítettük antigénnel, akkor az antigénre sepecifikus T sejt választ tudott kiváltani. Nem világos, hogy a DSk érését elősegítő faktorok a két felülúszóban azonosak-e vagy sem. Egy korábbi közleményben a 24 órás serkentő, míg a 48-72 órás felülúszó gátló hatásáról számoltak be, a gátlásért a transzformáló növekedési faktor β 1-et tartották felelősnek. Mivel a mi késői felülúszónk elősegítette a DSk érését, de más időpontban volt begyűjtve, mint a gátló hatást kifejtő felülúszó, így feltételezhető, hogy a gátló és serkentő anyagok megjelenése a felülúszóban speciális időbeli mintázatot mutat.

Összefoglalás

A tézisben szereplő új eredmények:

Cpn szaporodás tanulmányozása egérmodellen:

- Az első illetve az ismételt fertőzések után magas kópiaszámban van jelen a bakteriális DNS a tüdőben és a vérben, de néhány állat vérében bakteriális örökítőanyagot lehet kimutatni a fertőzés utáni igen késői időpontokban is.

A *Cpn* és az emberi DSk kapcsolatának vizsgálata:

- a *Cpn* antigén különböző DS alpopulációkban van jelen az érési folyamat alatt,
- fertőzött DSk-ben valós idejű PCR segítségével mérhető az egyes bakteriális gének mRNS kifejeződése, a baktérium szaporodásához szükséges *16S RNS*, *groEL*, *omcB* gének kifejeződése minden mintában, *ftsK* génkifejeződés csak a minták egy részében,
- *Cpn* fertőzés hatására bizonyos DS alpopulációk IFN- γ -t termelnek, de a citokin önállóan nem felelős a chlamydiális perzisztencia kialakulásáért.

A HCMV-Oslo és az emberi DSk kapcsolatának vizsgálata:

- A HCMV-Oslo törzzsel fertőzött MRC-5 sejtekről származó korai és késői felülúszókban jelen vannak olyan faktorok, amelyek az érési molekulák fokozottabb kifejeződését idézik elő a DSk-en,
- a vírusrészecskék nem szükségesek a DSk érésének fokozásához,
- mind a késői, mind a korai felülúszók funkcionálisan éretté teszik a DSk-et.

Köszönetnyilvánítás

A legmélyebb tisztelettel és hálás köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Gönczöl Éva Professzor Asszonynak, aki témavezetői minőségén messze túlmutatóan nemcsak szakmai de óriási emberi segítséget is nyújtott munkámhoz. Köszönöm tudományos szemléletre való nevelését, iránymutatását és örök optimizmusát.

Őszinte hálával tartozom Dr. Endrész Valériának és Dr. Burián Katalinnak, akik közvetlen útmutatásával elindulhattam pályámon, óriási szakmai tapasztalatukkal segítettek munkámat. Köszönöm értékes szakmai, gyakorlati tanácsaikat és észrevételeiket.

Köszönetet illeti Tresó Bálint kollégámat a kísérleteimben nyújtott segítségéért, hasznos észrevételeiért és megjegyzéseiért.

Köszönettel tartozom Kunosné Végh Máriának a kitűnő asszisztensi segítségért.

Köszönettel tartozom a Dr. Takács Mária főosztályvezető asszonynak, Dr. Berencsi Györgynek professzor úrnak, Dr. Melles Márta főigazgató asszonynak és Dr. Mándi Yvette intézetvezető professzor asszonynak, hogy munkámat Intézetükben lehetővé tették. Köszönöm az OEK Virologiai Főosztályának és az SZTE Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet dolgozóinak támogatásukat.

Ezúton szeretném megköszönni azon kollégáimnak, barátaimnak, tanárainak a munkáját, akik hozzájárultak PhD dolgozatom létrejöttéhez.

Végül, de nem utolsósorban szeretném megköszönni Családomnak: Édesanyámnak, Édesapámnak, Testvéremnek, Anikónak, valamint Krajecz keresztanyának, és Nagypapámnak szeretetüket, megértésüket és hogy céljaim elérése érdekében mindenben támogattak.

A tézishez kapcsolódó közlemények

A Tézisben szereplő közlemények listája:

1. **Kis Z**, Tresó B, Burian K, Endresz V, Pallinger E, Nagy A, Toth A, Takacs M, Falus A, Gonczol E. Expression of bacterial genes and induction of interferon-gamma in human myeloid dendritic cells during persistent infection with *Chlamydomphila pneumoniae*. FEMS Immunol Med Microbiol, közlésre elfogadva. **IF.: 2,281**
2. **Kis Z**, Burian K, Tresó B, Acs A, Prohaszka Z, Fust G, Gonczol E, and Endresz V. Inflammatory- and immune responses in relation with bacterial replication in mice following re-infections with *Chlamydomphila pneumoniae*. Inflamm Res, közlésre elfogadva. **IF.: 1,485**
3. **Kis Z**, Pallinger E, Endresz V, Burian K, Falus A, Berencsi G, Gonczol E. A soluble factor(s) released by MRC-5 cells early and late after human cytomegalovirus infection induces maturation of monocyte-derived dendritic cells. Arch Virol 2006; 151: 2277-87. **IF.: 1,850**

A témához kapcsolódó, de a Tézisben nem szereplő közlemények listája:

1. Petrovay F, Heltai K, **Kis Z**, Tresó B, Gonczol E, Burian K, Endresz V, Valyi-Nagy I. Chronic infection and histamine, CRP and IL-6 level after percutaneous transluminal coronary angioplasty. Inflamm Res 2007; 56: 362-7. **IF.: 1,485**
2. **Kis Z**, Sas K, Gyulai Z, Tresó B, Petrovay F, Kapusinszky B, Csire M, Endresz V, Burian K, Mandi Y, Vecsey L, Gonczol E. Chronic infections and genetic factors in the development of ischemic stroke. New Microbiol 2007; 30: 213-20. **IF.: 0,806**
3. Virok D, **Kis Z**, Kari L, Barzo P, Sipka R, Burian K, Nelson DE, Jackel M, Kerényi T, Bodosi M, Gonczol E, Endresz V. *Chlamydomphila pneumoniae* and human cytomegalovirus in atherosclerotic carotid plaques combined presence and possible interactions. Acta Microbiol Immunol Hung 2006; 53: 35-50.
4. Gönczöl É, **Kis Z**. Az atherosclerosis és a mikroorganizmusok. Berencsi György (szerk), Orvosi Molekuláris Virologia 1. kiadás, Convention Budapest Kft. Budapest, 2005; 193-201.
5. N. Szomor K, Dencs Á, **Kis Z**, Takács M. Molekuláris, real-time és chip technológia a vírusdiagnosztikában. Berencsi György (szerk), Orvosi Molekuláris Virologia 1. kiadás, Convention Budapest Kft. Budapest, 2005; 147-163.
6. **Kis Z**. Emberi dendritikus sejtek és fertőző ágensek. Lege Artis Medicinae 2004; 14: 258-64.
7. **Kis Z**, Pallinger E, Endresz V, Burian K, Jelinek I, Gonczol E, Valyi-Nagy I. The interactions between human dendritic cells and microbes; possible clinical applications of dendritic cells. Inflamm Res 2004; 53: 413-23. **IF.: 1,485**
8. Heltai K, **Kis Z**, Burian K, Endresz V, Veres A, Ludwig E, Gonczol E, Valyi-Nagy I. Elevated antibody levels against *Chlamydia pneumoniae*, human HSP60 and mycobacterial HSP65 are independent risk factors in myocardial infarction and ischaemic heart disease. Atherosclerosis 2004; 173:337-44. **IF.: 3,811**
9. Burian K, Hegyesi H, Buzas E, Endresz V, **Kis Z**, Falus A, Gonczol E. *Chlamydomphila (Chlamydia) pneumoniae* induces histidine decarboxylase production in the mouse lung. Immunology Letters 2003; 89: 229-36. **IF.: 2,352**

10. Virok D, **Kis Z**, Karai L, Intzedy L, Burian K, Szabo A, Ivanyi B, Gonczol E. *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic middle cerebral artery. *Stroke* 2001; 32: 1973-6. **IF.: 5,391**
11. Burian K, **Kis Z**, Virok D, Endresz V, Prohaszka Z, Duba J, Berencsi K, Boda K, Horvath L, Romics L, Fust G, Gonczol E. Independent and joint effects of antibodies to human heat-shock protein 60 and *Chlamydia pneumoniae* infection in the development of coronary atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103: 1503-8. **IF.: 10,940**
12. **Kis Z**, Burian K, Virok D, Kari G, Endresz V, Gonczol E. Chronic infections and atherosclerosis. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2001; 48: 497-510.