

Abstrakt

Cystická fibrosa je autozomálně recesivní onemocnění způsobené mutací v genu CFTR kódujícím chloridový kanál na apikální membráně epitelálních buněk. To vede ke změně transportu iontů a zahuštění hlenů v dýchacích cestách, kde navíc dochází ke změnám glykosylace povrchových struktur, které se stávají vhodným cílem pro adhezi bakterií. Chronické bakteriální infekce vedou k postupnému snižování funkce plic, poškození plicní tkáně a jsou hlavní příčinou úmrtí pacientů s CF.

Pseudomonas aeruginosa je nejčastější patogen způsobující chronické infekce u pacientů s CF. Tyto bakterie vytvářejí biofilm, který je chrání před účinky imunitního systému a antibiotik. Jakmile dojde ke kolonizaci PA, je obtížné se tohoto patogenu zbavit. Prevencí chronických infekcí PA by mohla být profylaktická léčba orálně podávanými slepičími protilátkami proti adhezivním strukturám PA.

V této práci byla testována protilátka proti bakteriálnímu lektinu PA-IIL, který je jedním z klíčových struktur podílejících se na adhezi tohoto patogenu na epitelální buňky. Nejprve bylo ověřeno, že použitá specifická protilátka z vaječných žloutků slepice imunizované bakteriálním lektinem PA-IIL rozeznává specificky tento lektin, a to jak rekombinantně připravený, tak přirozeně exprimovaný bakteriemi *Pseudomonas aeruginosa*. Vliv těchto protilátek na adhezi PA byl studován na epitelálních buňkách pacienta s CF (CuFi-1) a zdravého jedince (NuLi-1). Vyhodnocení vlivu protilátek na adhezi bakterií bylo provedeno spektrofluorimetry, kdy byl určován poměr fluorescencí bakteriálních a epitelálních buněk značených fluorochromy PKH.

Použitím luminiscenčního kmenu PA bylo prokázáno, že fluorescenční barvení nemá vliv na viabilitu bakteriálních buněk a jejich schopnost adheze.

Reprodukovatelně bylo zjištěno, že specifická slepičí protilátka proti lektinu PA-IIL efektivně snižuje schopnost adheze bakteriálních buněk na buňky plicního epitelu až o 67 % u obou linií plicních buněk oproti buňkám bez přidané protilátky. Tento trend byl pozorován u všech použitých bakteriálních kmenů a byla prokázána koncentrační závislost na množství použité protilátky.

Kontrolní protilátka naopak vazbu bakterií na plicní buňky zvyšuje. To může být způsobeno interakcí bakteriálních lektinů se sacharidy protilátky. Díky dimerické struktuře protilátky může dojít k prosítění bakteriálních buněk přes protilátky, což znesnadní odstranění bakterií v průběhu promývání.

Dále byl studován vliv rekombinantně připraveného lektinu PA-IIL na bakteriální adhezi. Preinkubace plicních buněk s lektinem PA-IIL však vazbu bakterií neovlivnila.

Výrazné snížení množství navázaných bakterií v přítomnosti specifické protilátky proti lektinu PA-IIL naznačuje, že slepičí protilátky by mohly být vhodným prostředkem v prevenci bakteriálních infekcí patogenem *Pseudomonas aeruginosa* u pacientů s CF.

Klíčová slova: buněčné linie, žlutkové protilátky, luminiscence bakterií, fluorescenční značení