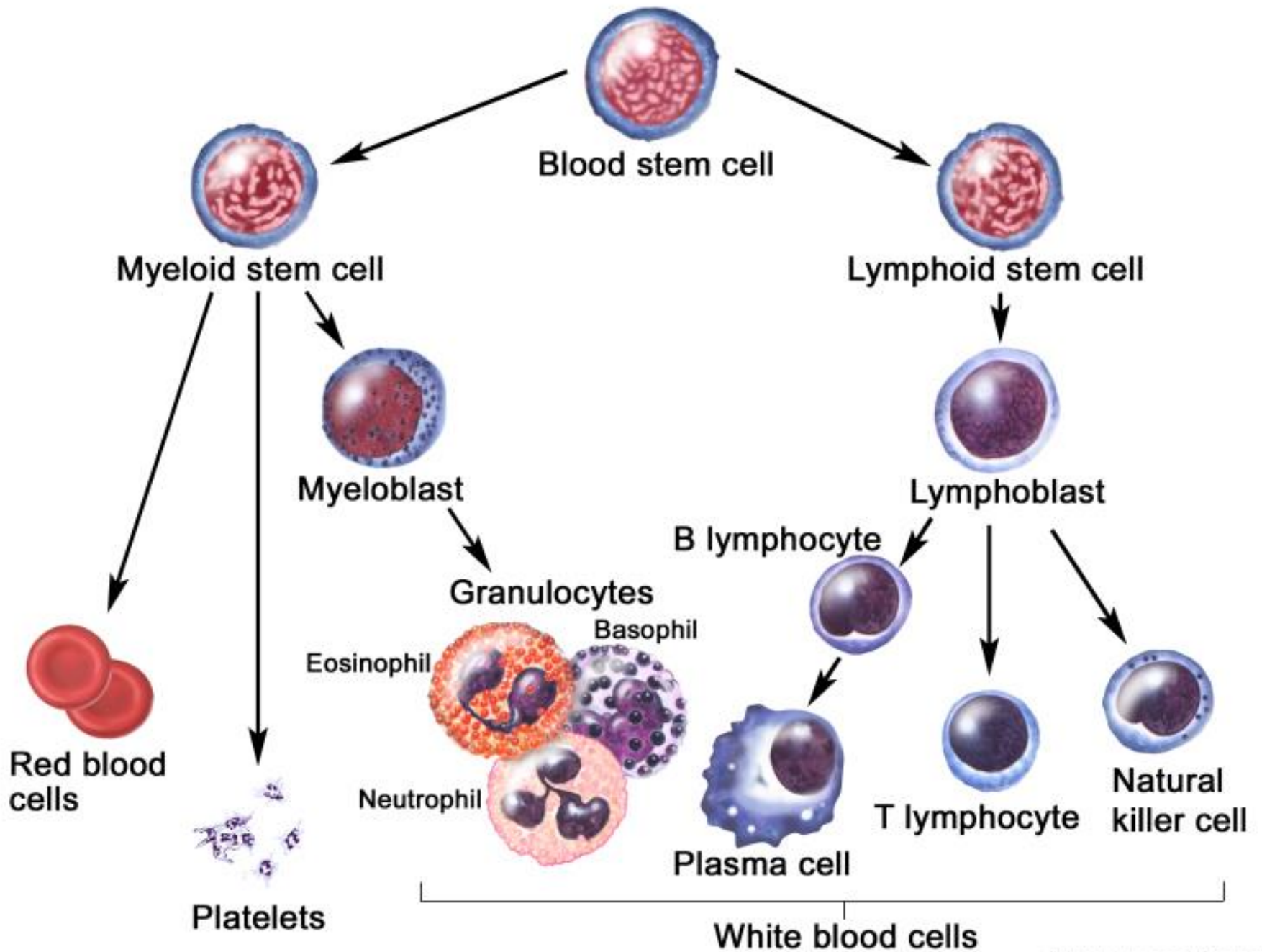




Turun yliopisto
University of Turku

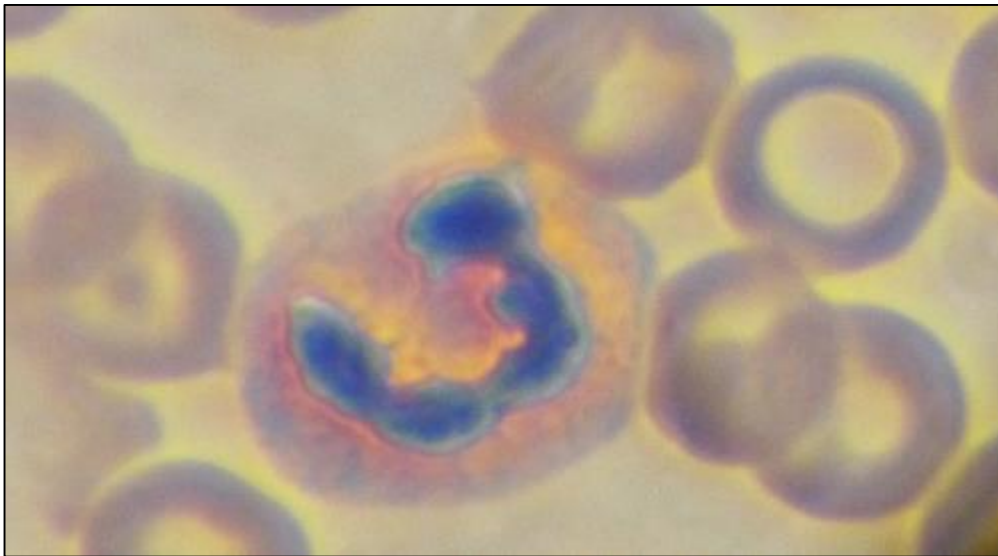
NEUTROFIILISTEN GRANULOSYYTTIEN KÄYTTÖ TERVEYSHAITAN ARVIOINNISSA

Janne Atosuo FT
Biokemian laitos
Immunokemia
Kliininen tutkimusyksikkö TROSSI
2018



NEUTROFIILIT

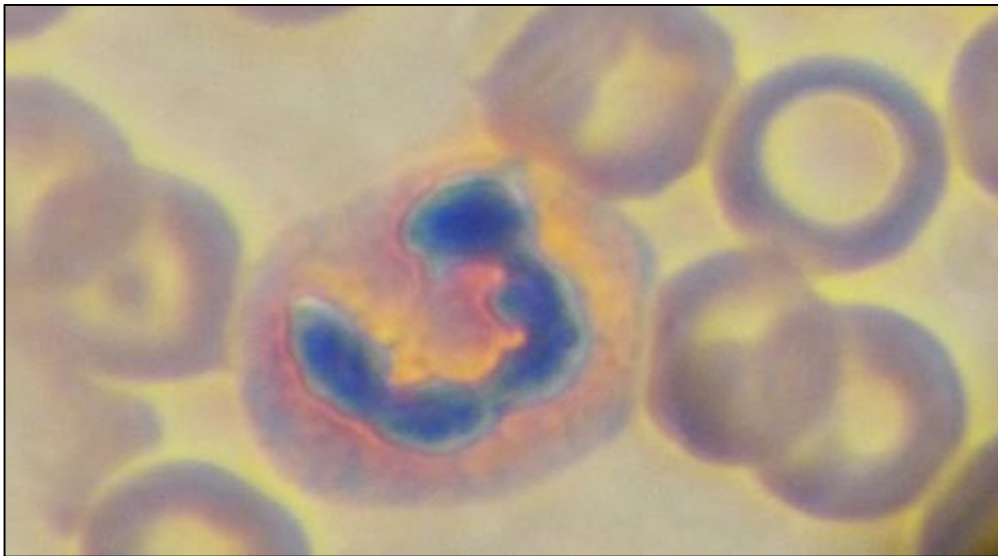
- Granylosyyttiset neutrofiilit ovat yleisin valkosolutyyppe
- Käytännössä ne tuhoavat ja poistavat **fagosytoimalla** kaikki järjestelmää ja kudosta uhkaavat tunkeutujat, siis mikrobit tai vieraspartikkelit



Klebanoff et al. 2013
Hurst 2012
Thrasher, Segal 2011
Roos, Winterbourn 2002

NEUTROFIILIT

- Neutrofiilit toimivat immuunijärjestelmän ensimmäisenä solupuolustuslinjana ja ovat merkittävä osa synnyntäisen immunitetin toimintaa.
- Neutrofiilit osallistuvat olennaisina tekijöinä myös adaptiivisen immuunivasteen indusoitumiseen ja koko systeemin homeostaasin ylläpitoon ja säätelyyn.

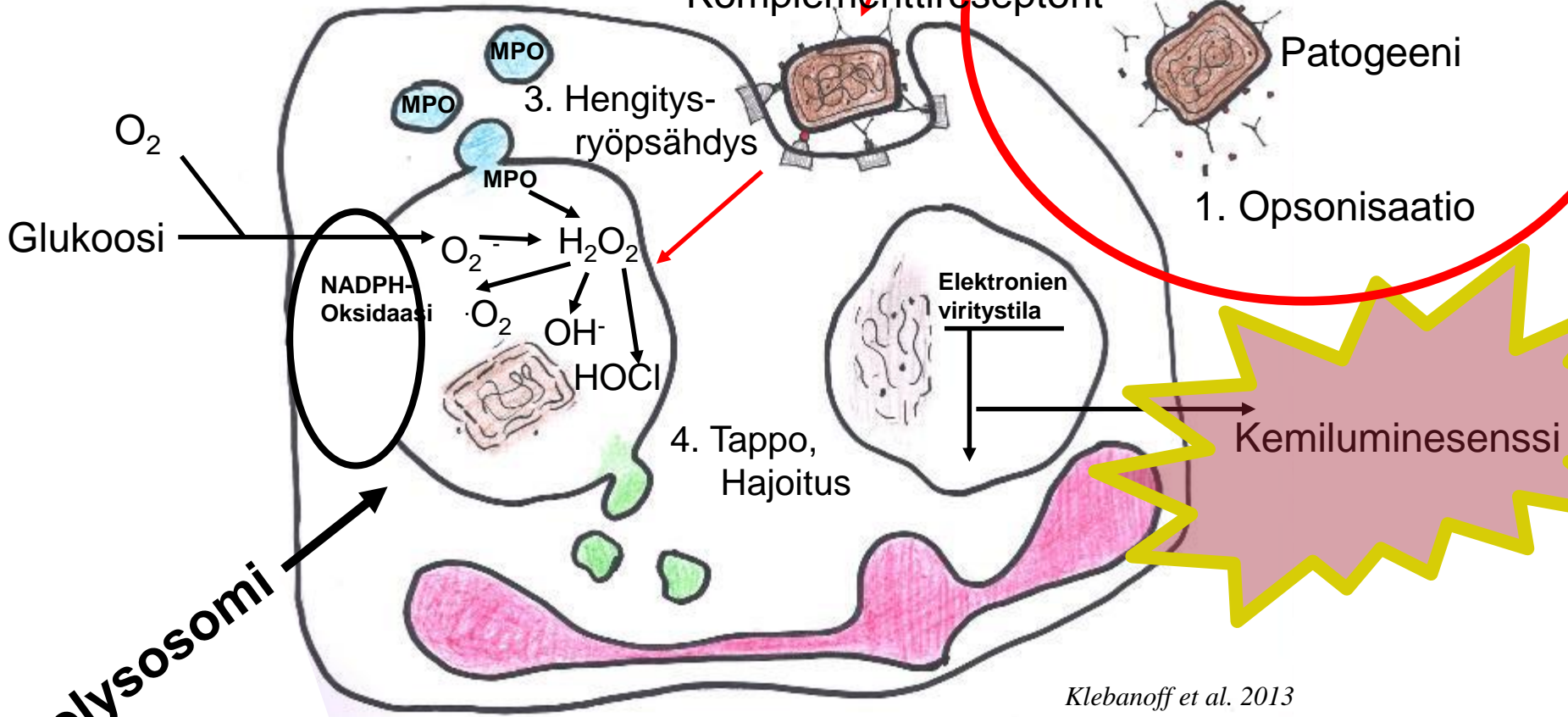


Klebanoff et al. 2013
Hurst 2012
Thrasher, Segal 2011
Roos, Winterbourn 2002

2. Tunnistus,
Adheesio,
Ingestio

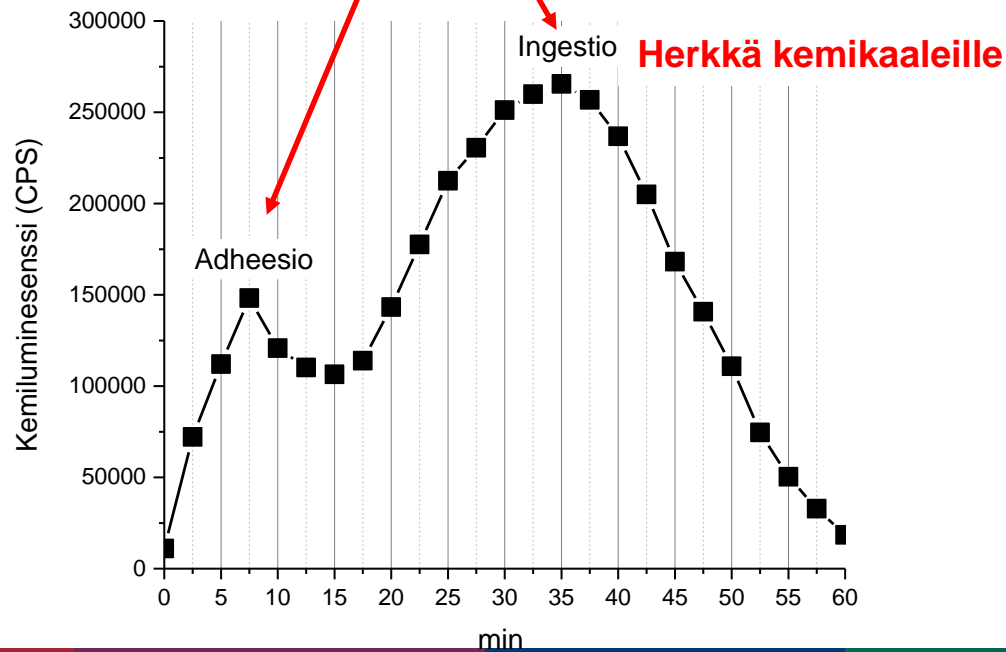
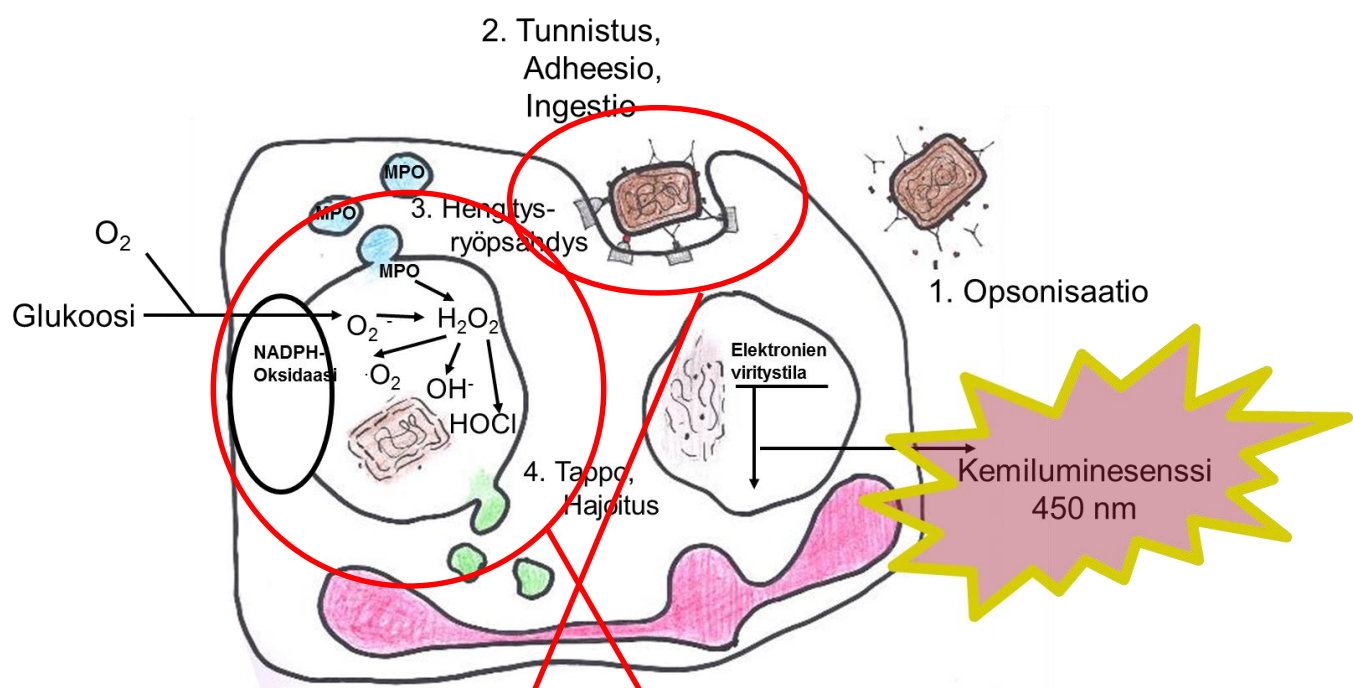
- Fc reseptorit
- Komplementireseptorit

- Vasta-aineet IgG, (IgA, IgM)
- Komplementin komponentit

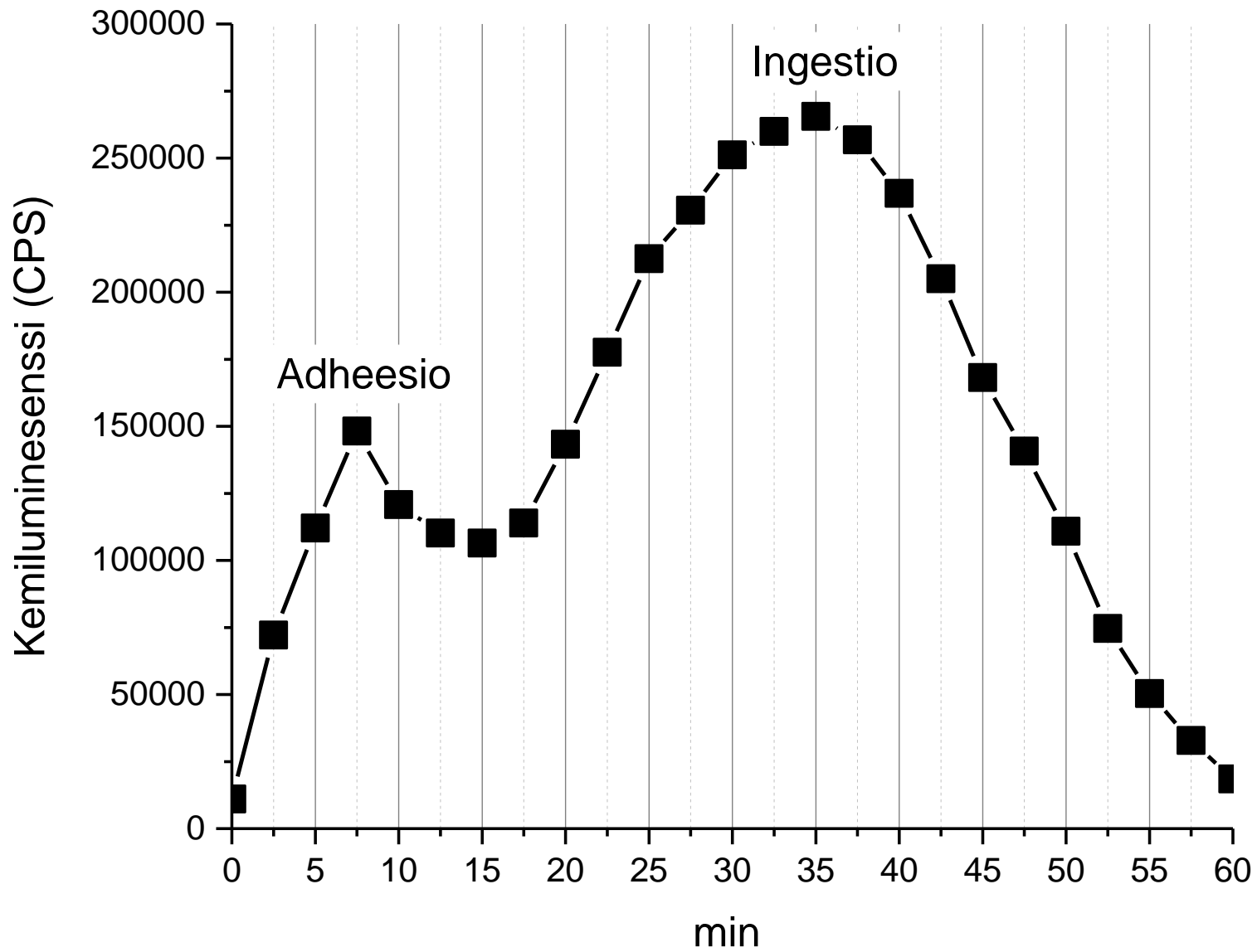


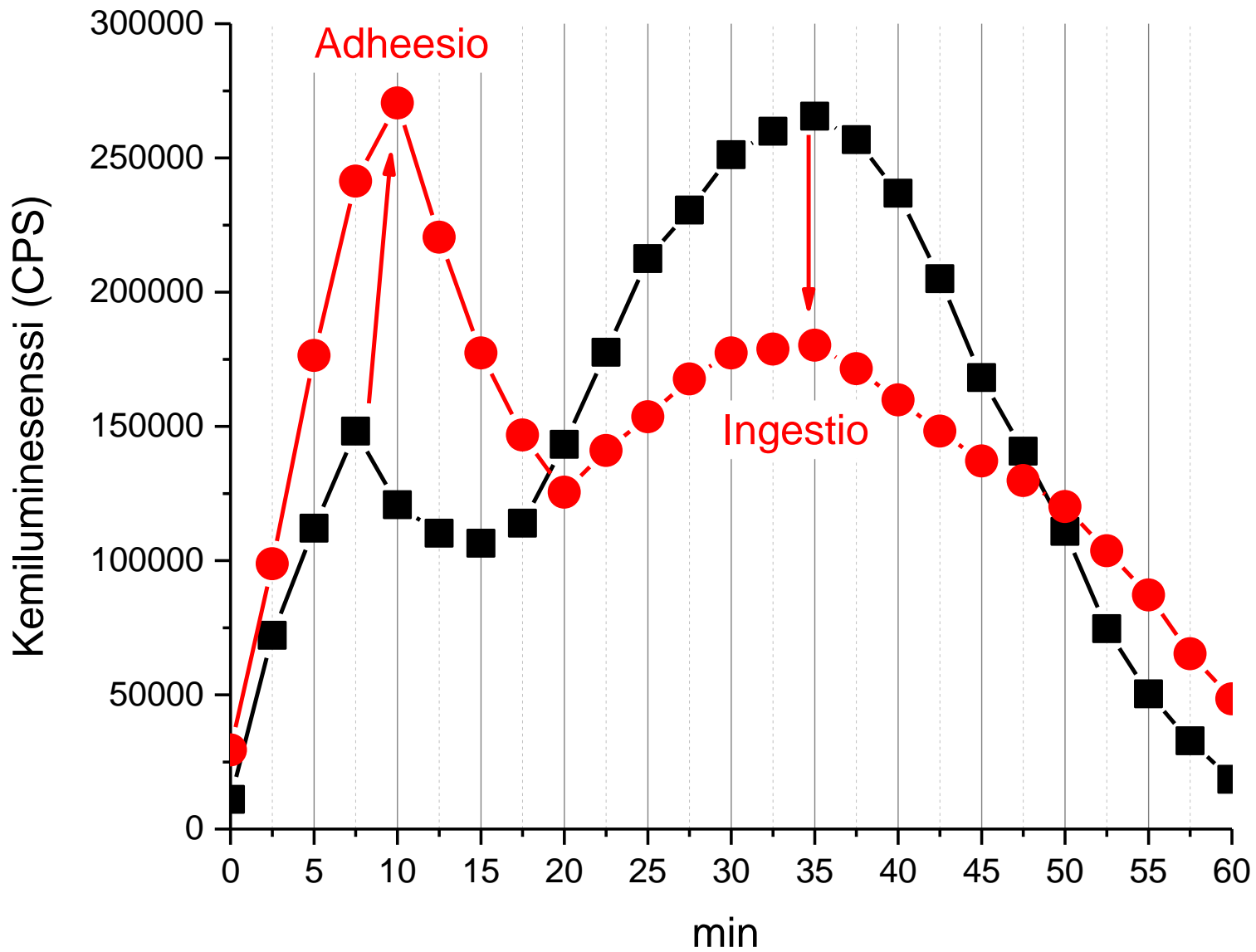
Fagolysosomi

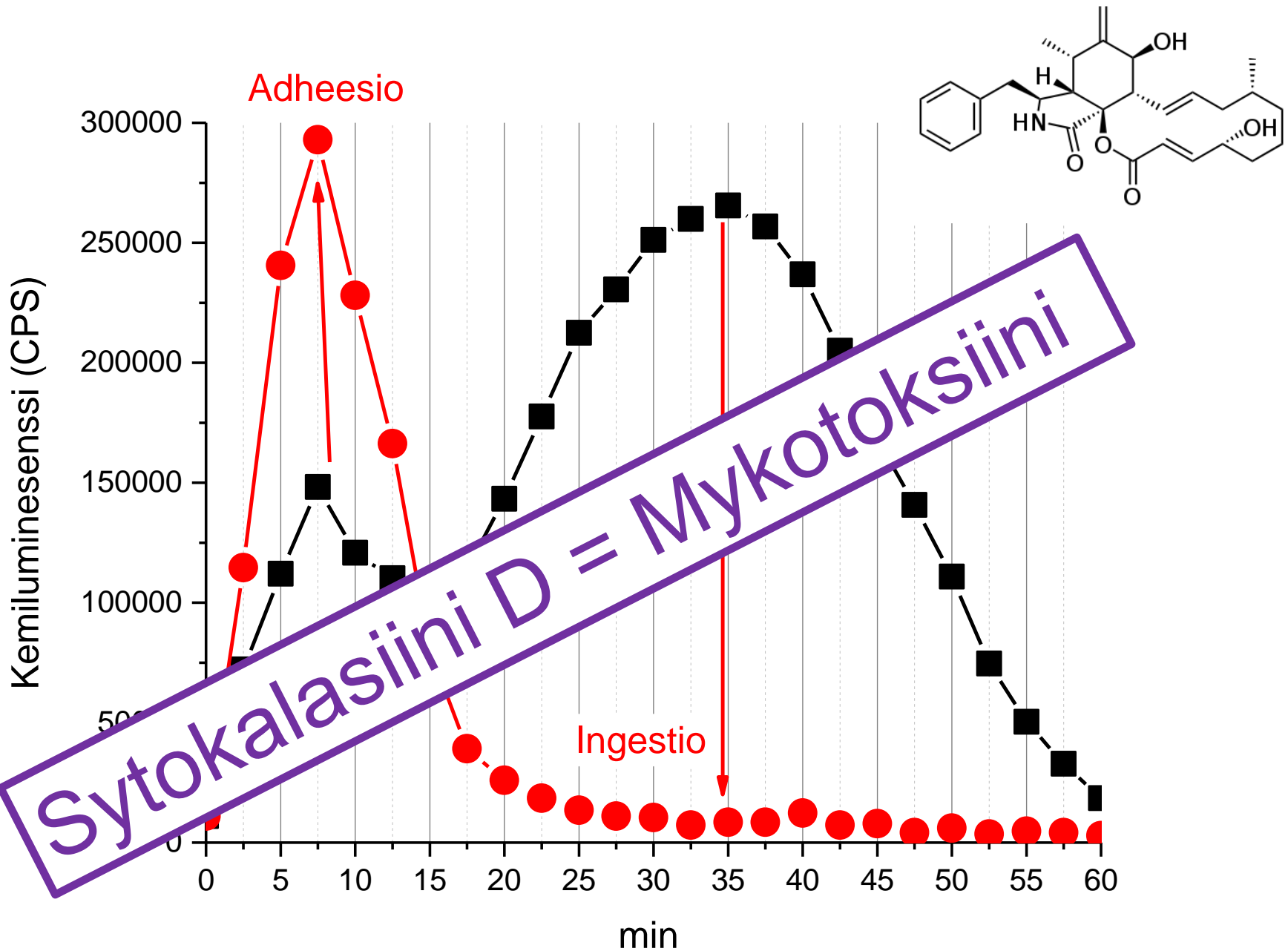
Klebanoff et al. 2013
Hurst 2012
Atosuo et al. 2011
Thrasher, Segal 2011
Segal 2005
Reeves et al. 2002
Roos, Winterbourn 2002



Vilén et al. 2017
 Atosuo 2015
 Ciz et al 2012
 Pedata et al. 2012
 Jantan et al. 2011
 Lilius, Nuutila 2006
 Marnila et al 1995
 Lilius et al. 1987

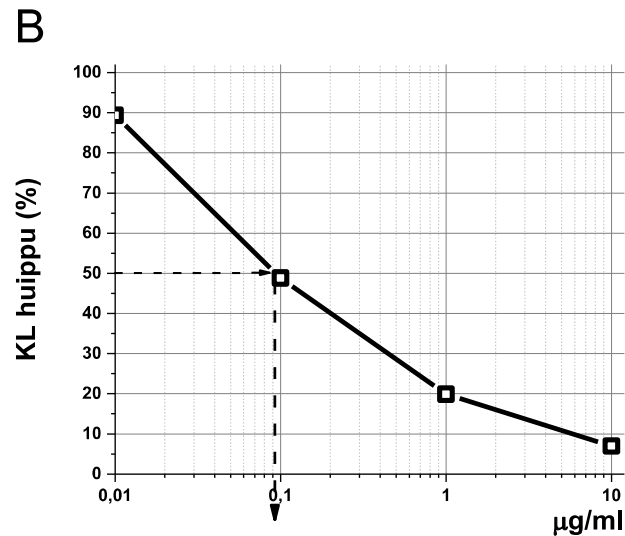
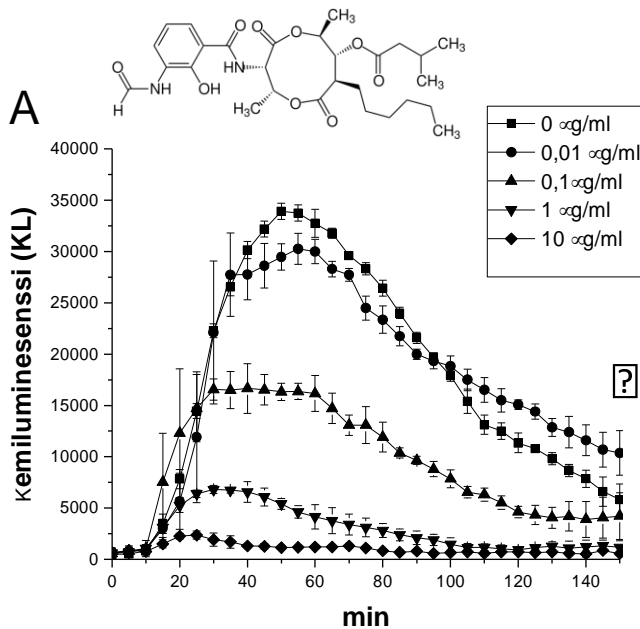






IN VITRO TOKSISUUSMITTAUS

- Neutrofiilejä voidaan käyttää toksisuuskoettimin joko eristettynä tai kokoverilaimennoksena esim. sormenpäöverinäytteestä
- Toksisuus havaitaan kemiluminesenssin laskuna!



Atosuo. 2015 ja 2017
Vilén. et al. 2017
Ciz et al 2012
Lilius, Nuutila . 2006
Marnila . et al 1995
Lilius et al. 1987

Mitokondriomyrkkä antimysiini A:n vaikutus ihmisen sormenpääveren neutrofiilien fagosytoosiaktiivisuuteen. Kuvassa vaikutus KL kinetiikkaan. Arvot kolmen mittauskaivon keskiarvo ja STDV. Kuvassa B Antimysiini A:n annosvasteet. Annosvaste 0 µg/ml, eli pelkkien neutrofiilien vaste, määriteltiin 100 %:ksi.

IN VITRO TOKSISUUSMITTAUS

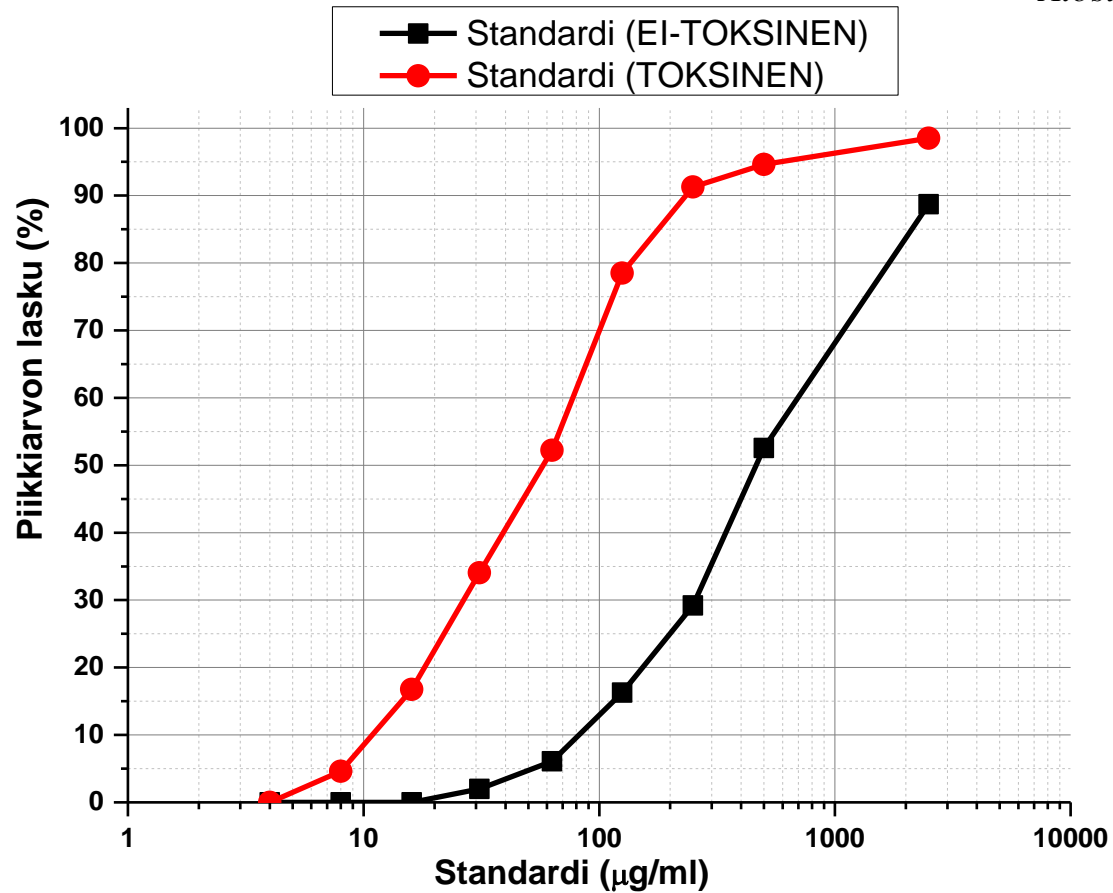
PÖLYNÄYTTEET

Vilén Et al. 2017

Cecinato et al. 2017

La Guardia et al. 2017

Atosuo 2015



Kirjolohi:

Paperiteollisuuden valkaisuun
käyttämät kloridipitoiset valkaisuaineet
laskivat merkittävästi kirjolohien
neutrofiiliaktiivisuutta huuhdevesialtaissa

Lilius et. al. 1992



Rotta:

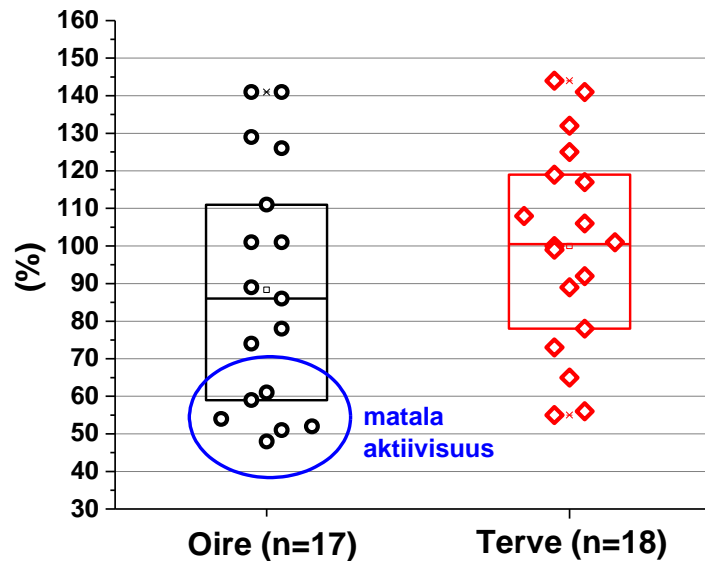
28 päivän altistus (ravinnossa)
moniliformiinille
laski merkittävästi rottien
neutrofiiliaktiivisuutta

Jonsson et. al. 2014





Ihminen:
Vauriorakennuksista mahdollisesti
altistuneiden neutrofiilivasteita mitataan.
Oireettomia ja oireellisia verrataan.



Testattujen henkilöiden neutrofiilien soluspesifiset fagotsytoosiaktiivisuudet. Kontrolliryhmän (n=18), eli terveiden henkilöiden keskiarvo määritettiin 100 %:ksi. Vaurioryhmän (n=17) kohdalla erottui alhaisen aktiivisuuden omaava ryhmä, joka on kuvassa ympyröity.

Vilén. et al. 2017
Atosuo. 2015, 2017
Ciz et al 2012
Lilius et al. 1987, 1992, 2008
Marnila . et al 1995

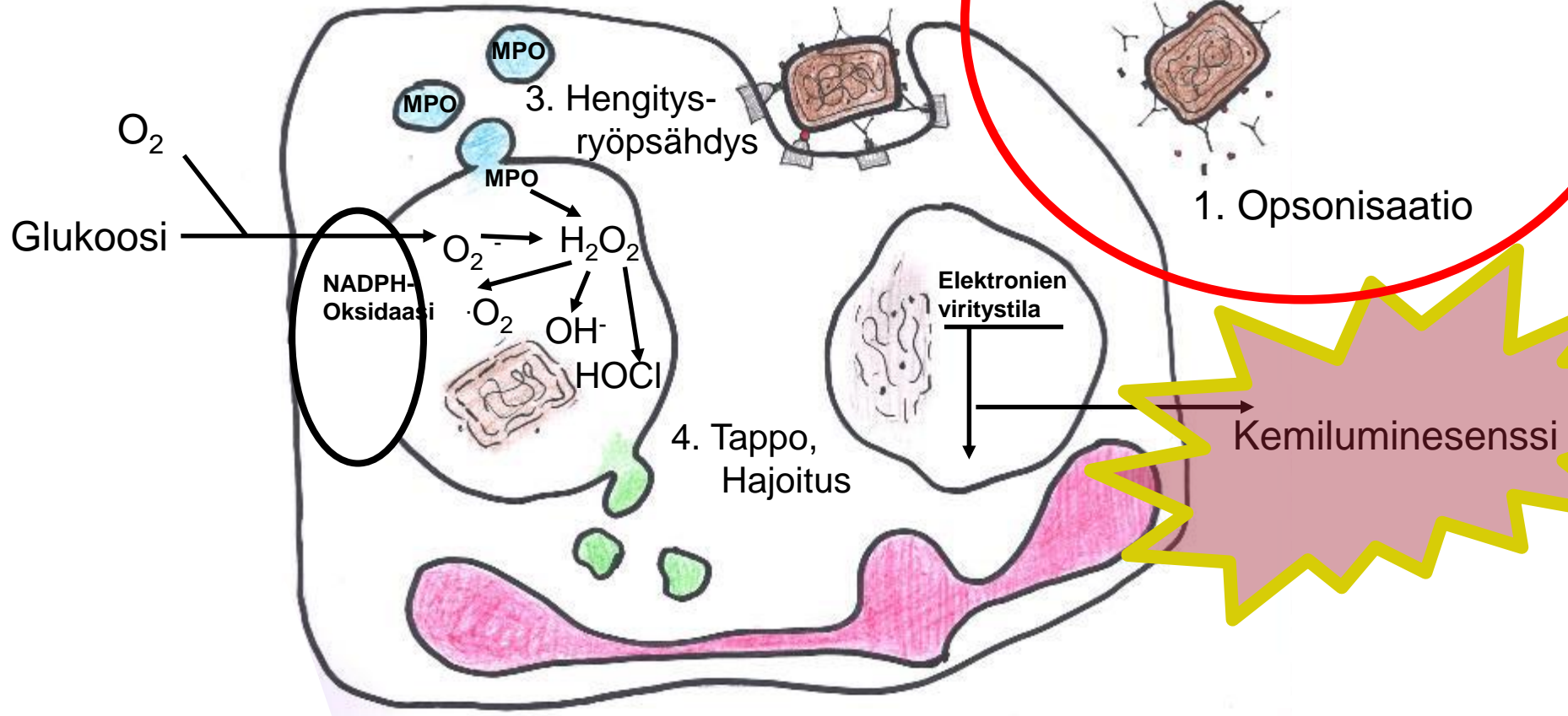
ALTISTUKSEN MITTAUS SEERUMINÄYTTEISTÄ

- IgG on seerumin pääopsoniini ja itiöspesifiset fagocytoosiaktiivisuudet korreloivat itiöspesifisten ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay) - tulosten kanssa.
- Mitä suurempi määrä vasta-ainetta sitä tehokkaampi fagocytoosiaktiivisuus.
- Voidaan käyttää sormenpääverinäytettä, joka mahdollistaa pikatestien suunnittelun

*Vilén et al. 2017
Atosuo . 2015 ja 2017
Ciz . et al. 2012
Lilius. et. al. 1987 ja 1992*



2. Tunnistus, Adheesio, Ingestio

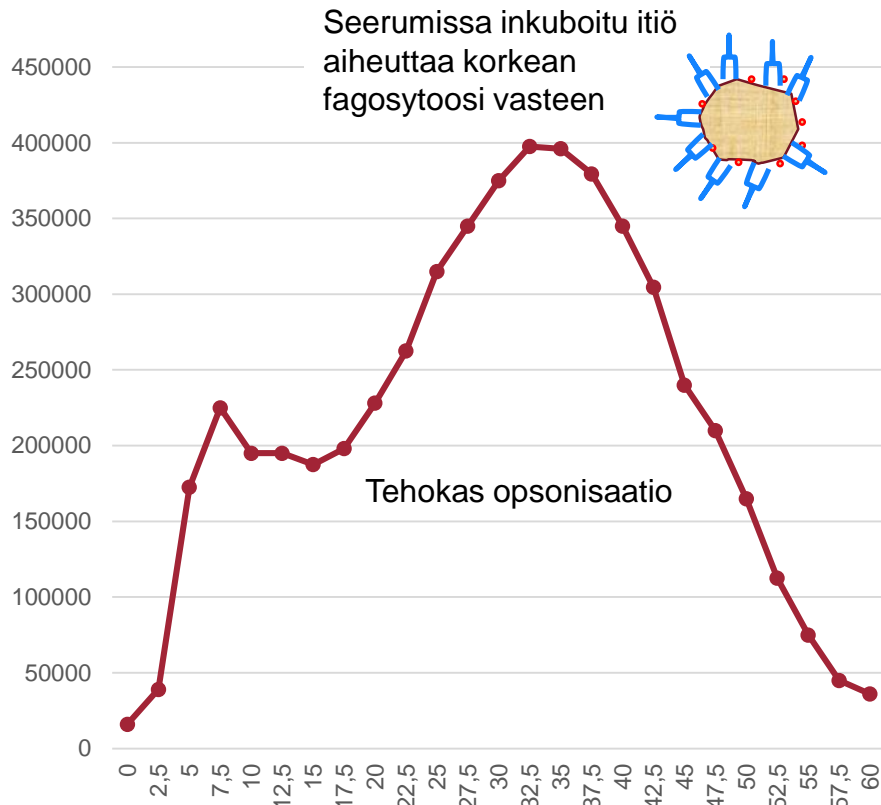


- Spesifiset vasta-aineet (IgG)

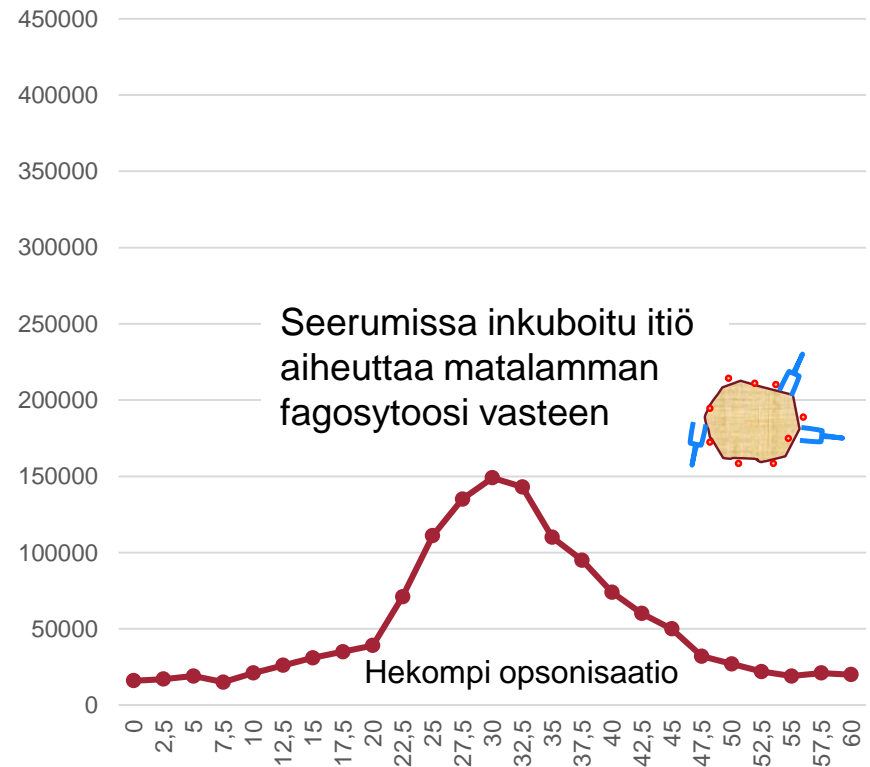
Vilén L. et al. 2017
Atosuo J. 2015 ja 2017
Lilius EM. et. al. 1987 ja 1992

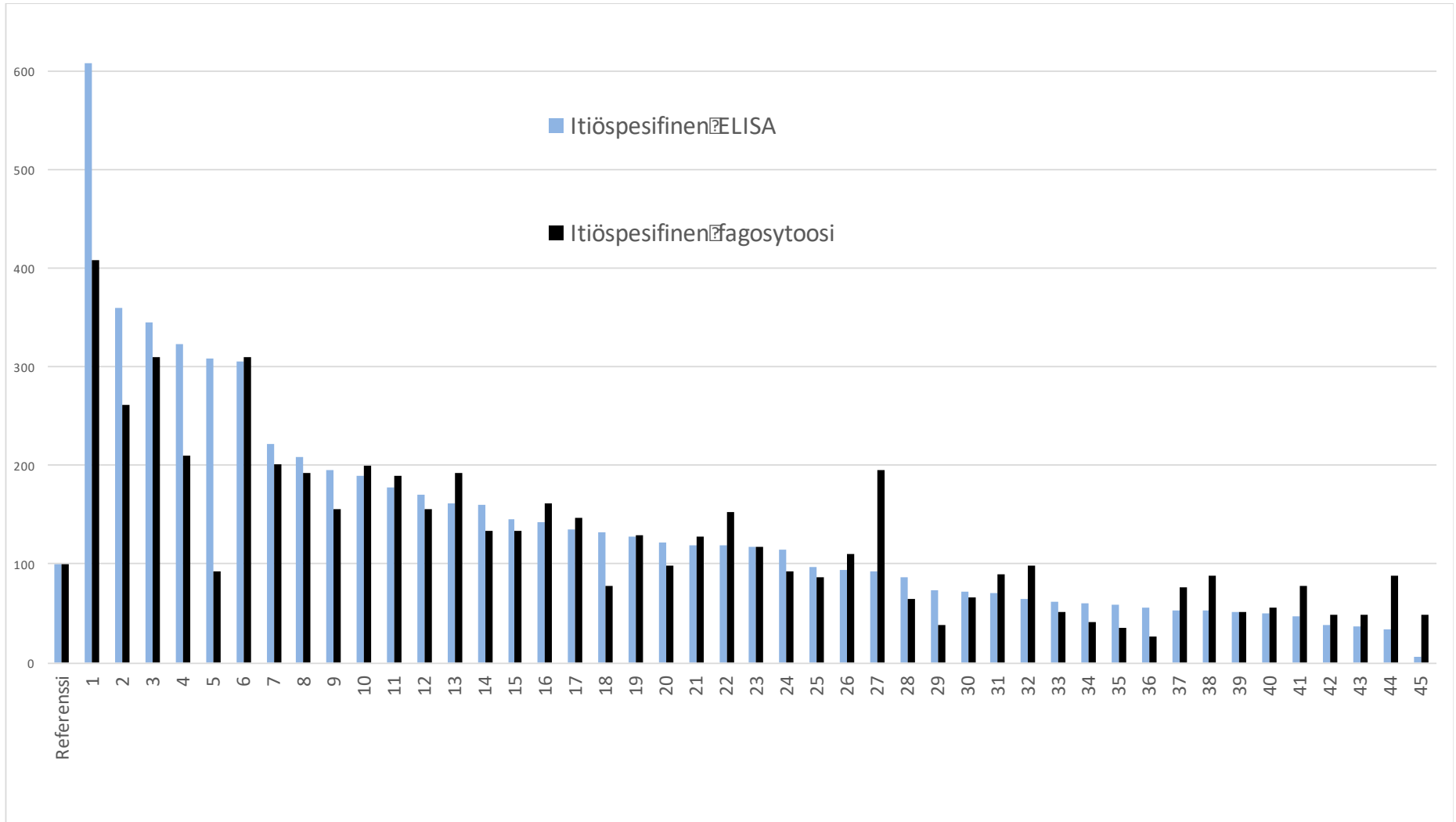
ALTISTUKSEN MITTAUS

Seerumi josta mitattu korkea Itiöspesifinen (*Streptomyces albus*) IgG



Seerumi josta mitattu matala Itiöspesifinen (*Streptomyces albus*) IgG





- **Leukosyyttien pintareseptorien fenotyyppitys perustuu valkosolujen pintareseptoreiden analyysiin virtaussytometrillä.**
- Leukosyyttipopulaatiosta mitataan tiettyjen pintareseptoreiden expressioita (mm. CD35, CD46, CD55, CD59, CD28, CD64, CD11b ja MHC I). Analyysi tapahtuu statistisesti, erilaisten reseptorien ja reseptoriryhmien ilmenemisen suhteista
- Bakteri- ja virusinfektioissa leukosyyteillä on oma toisistaan ja terveistä yksilöistä eroava pintareseptorifenotyyppinsä ja ne pystytään nopeasti tällä menetelmällä differentioimaan.
- Menetelmällä on testattu suuri määrä infektiopotilaita ($n > 1200$) ja sillä pystytään hyvin korkeaan spesifisyyteen ja sensitiivisyyteen bakteri/virus-differentiaaliagnostiikassa. Menetelmä on käytössä Turun yliopistollisen keskussairaalassa.

Nuutila et al. 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2016

Lilius et. al. 2012

- Kosteusmikrobialistuksen aiheuttamat muutokset muodostavat oletettavasti oman fenotyypinsä, joka eroaa vastaavista bakteeri- ja virusinfektioista sekä terveistä kontrolleista.

Vilén et al. 2017

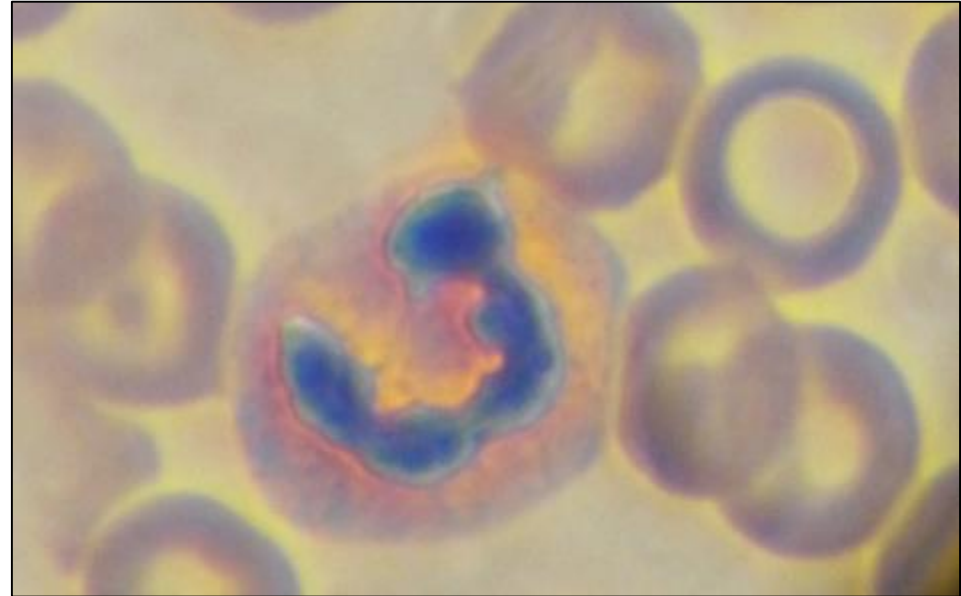
Nuutila et al. 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013 ja 2016

Lilius et. al. 2012

- ❖ Hyvä patofysiologisen tilan mittari!
- ❖ Herkkä toksiineille!

Koetinsolu toksisuusmittauksiin!

- *IN VITRO*-testaus
 - *IN VIVO*-testaus
- Toksiinille altistunut systeemi



Altistuksen mittaus

- Seerumin antigeenispesifinen IgG
 - Leukosyyttien fenotyypitys virtaussytometrillä
- ❖ Soluja tarvitaan vähän ja testi voidaan tehdä esim. sormenpäáverestä!
Mahdollistaa pikatestien kehittämisen

Kliininen tutkimusyksikkö TROSSI

- ▣ Prof MD Tuula Putus (**LKT**)
- ▣ Dos MD Jussi Kantele (**LKT**)
- ▣ FT Janne Atosuo (**Biokemia**)
- ▣ Tohtorikoulutettava TtM Liisa Vilen (**LKT**)
- ▣ Tohtorikoulutettava FM Eetu Suominen (**LKT, Biokemia**)
- ▣ Maisteriopiskelija LuK Juho Myllymäki (**Biokemia**)
- ▣ LuK Eemil Aalto-Setälä (**Biokemia**)
- ▣ Bachelor student Veronika Skockova (Masaryk University, Czech Republic) (**Biokemia**)

Biokemian laitos

- Dos Jari Nuutila
- Dos Esa-Matti Lilius



Työsuojelurahasto



JUHO VAINION SÄÄTIÖ

University of Turku



15.3.2018