

AZ ELHÍZÁS HATÁSÁNAK *EX VIVO* CARS ÉS *IN VIVO* SHG MIKROSKÓPIÁS VIZSGÁLATA EGÉRBŐR MODELLEN ÚJ, Yb-SZÁLERŐSÍTŐN ALAPULÓ STOKES FÉNYFORRÁSSAL

Haluszka Dóra^{1,2}, Szipőcs Róbert^{2,3}, Wikonkál Norbert¹, Kolonics Attila^{2,3}

¹ Semmelweis Egyetem Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika, 1085 Budapest, Mária u. 41.

² MTA Wigner FK, Szilárdtestfizikai és Optikai Intézet, 1121 Budapest, Konkoly-Thege M. út 29-33.

³ R&D Ultrafast Lasers Kft, 1121 Budapest, Konkoly-Thege M. út 29-33.

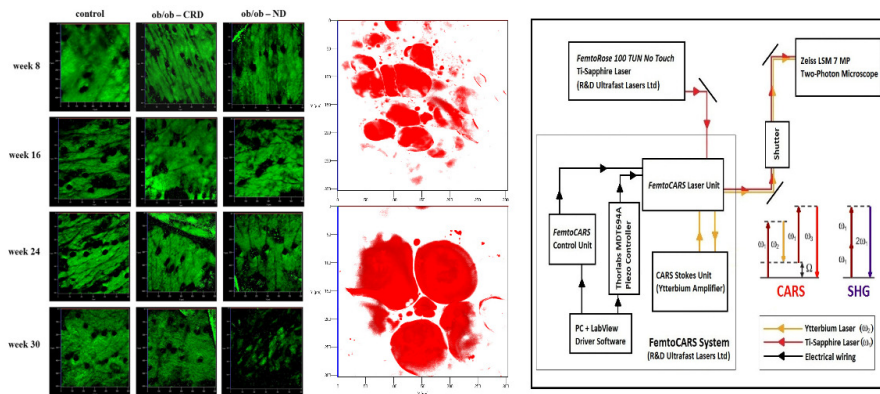
Az utóbbi évek jelentős áttörést hoztak a nemlineáris 3D mikroszkópia bőrgyógyászatban és gyógyszeriparban történő kutatási és klinikai alkalmazása területén, amiben leggyakrabban fluoreszcens jelölés-mentes technikákat (2PEF, SHG, CARS stb.) használunk [1,2,3].

Az elhízás (obesitas) olyan kórállapot, mely során a túlzott zsírraktározás olyan mértékű, hogy az káros az egészségre, illetve számos betegség kialakulásához vezethet, ilyen például a magas vérnyomás, szív- és érrendszeri megbetegedések vagy a 2. típusú diabétesz [4]. Az elhízás következményeként kialakuló 2-es típusú cukorbetegség gyakorisága világszerte növekszik, jelenleg hazánkban a lakosság mintegy 6 %-át érinti [5]. A betegek számát az ezredfordulón világszerte 175 millióra becsülték, míg az újabb előrevetített adatok szerint a kórkép 2030-ra 370 millió embert fog érinteni [6].

A megnövekedett testtömeg a kóros zsírlerakódás, illetve a megnövekedett zsírsejtek számának következménye. A bőr dermis rétegének fibroblaszt sejtjei szintetizálják az extracelluláris mátrixot alkotó kollagént és elasztikus rostokat. Elhízás során a megnövekedett zsírsejtek szabad zsírsavakat termelnek, melyek csökkentik a fibroblaszt sejtek proliferációját, fokozzák a kollagént lebontó enzimek aktivitását, illetve szabadgyök képződéshez vezetnek [7, 8]. Ezek a folyamatok hozzájárulnak a diabéteszhez társuló dermatológiai kórképek kialakulásához.

Munkánk során genetikailag módosított, leptin deficiens, elhízott egér modelleket vizsgáltunk 30 héten keresztül. 3D mikroszkópiás vizsgálatainkat a fluoreszcens jelölésektől mentes másodharmonikus keltés (SHG) módszere és a koherens anti-Stokes Raman mikroszkópia (CARS) lehetővé tette [9], amelyekkel *in vivo* és *ex vivo* körülmények között vizsgáltuk a dermis kollagén szerkezetét illetve a szubkután zsírsejteket. A mérési összeállításra vonatkozó vázlat az 1. ábrán jobb oldalon látható.

Eredményeink azt mutatták, hogy az elhízás mértékével arányosan a dermis kollagén mennyisége csökken, illetve szerkezete megváltozik (1. ábra, bal oldal). Továbbá a CARS mikroszkópiás mérések megerősítették, hogy az elhízott állat adipocytá sejtjei szignifikánsan nagyobb kiterjedésűek voltak a kontrollhoz képest (1. ábra, középen), és a dermis felé nyomulva feltételezhetően hozzájárulhatnak az extracelluláris mátrix degradációjához, melynek következtében a dermis elvékonyodott.



1. ábra

Összefoglalva eredményeinket munkánk során sikerült igazolnunk, hogy a nemlineáris képalkotó módszerek (SHG, CARS) megfelelően alkalmazhatók a metabolikus szindróma által okozott elváltozások azonosítására, ami a jövőben olyan nem invazív diagnosztikai célra alkalmas képalkotó eszköz megalkotását teszi lehetővé, ami a praktizáló orvosnak segít a diabéteszsel járó dermatológiai kórképek korai felismerésében [10].

A most bemutatott munkát a NFÜ TECH-09-A2-2009-0134 számú szerződése és az R&D Ultrafast Lasers Kft. támogatta.

Hivatkozások

- [1] P. Bognár, D. Haluszka, N. Wikonkál, A. Kolonics, R. Szipőcs and S. Kárpáti, Reduced Inflammatory Threshold Indicates Skin Barrier Defect in Transglutaminase 3 Knockout Mice, *J Investigative Dermatology* **134**, (2014)
- [2] A. Kolonics, Zs. Csiszovszki, E.R. Tőke, O. Lőrincz, D. Haluszka and R. Szipőcs, In vivo study of targeted nanomedicine delivery into Langerhans cells by multiphoton laser scanning microscopy, *Experimental Dermatology* **23**, (2014)
- [3] E.R. Toke, O. Lorincz, Z. Csiszovszki, E. Somogyi, G. Felföldi, L. Molnár, R. Szipőcs, A. Kolonics, B. Malissen, F. Lori, J. Trocio, N. Bakare, F. Horkay, N. Romani, C.H. Tripp, P. Stoitzner, J. Lisziewicz, Exploitation of Langerhans cells for in vivo DNA vaccine delivery into the lymph nodes, *Gene Therapy* **21**, (2014)
- [4] World Health Organization, World Health Report p.6 (2000)
- [5] Zs. Asztalos A diabetes mellitus cerebrális szövődményei. *Orvosi hetilap* **50** (2007)
- [6] S. Wild, G. Roglic, A. Green, R. Sicree and H. King Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, **27** (2004).
- [7] T. Ezure and S. Amano, Negative regulation of dermal fibroblasts by enlarged adipocytes through release of free fatty acids. *J Invest Dermatol*, **131** (2011)
- [8] T. Ezure and S. Amano, Increased subcutaneous adipose tissue impairs dermal function in diet-induced obese mice. *Exp Dermatol*, **19** (2010)
- [9] A. Kolonics, D. Csáti, P. Antal and R. Szipőcs; A simple, cost efficient fiber amplifier wavelength extension unit for broadly tunable, femtosecond pulse Ti-sapphire lasers for CARS microscopy; In: Proc. BIOMED Biomedical Optics and Digital Holography and Three Dimensional Imaging (Miami, Florida, United States, April 28-May 2 2012)
- [10] D. Haluszka, R. Szipőcs, N. Wikonkál, A. Kolonics, Characterization of Obesity in Murine Skin in vivo by CARS and SHG Microscopy Using a Cost Efficient, Fiber Laser Based Wavelength Extension Unit, EUROPHOTON 2014 Conference, paper WeP-T1-P-13 (2014).