

Psoriasis is a major Escherichia coli-cidal factor of the female genital tract

Mildner M, Stichenwirth M, Abtin A, Eckhart L, Sam C, Gläser R, Schröder JM, Gmeiner R, Mlitz V, Pammer J, Geusau A, Tschachler E.

Antimikrobielle Peptide

- AMP sind evolutionär konservierte Bestandteile des angeborenen Immunsystems die in allen Lebensformen vorkommen
- Targets: Gram+, Gram-, Mykobakterien, Viren, Pilze, transformierte/kanzeröse Zellen

Antimikrobielle Peptide

- Beim Menschen 3 Gruppen nachgewiesen
- 1) Defensine: auf Haut u Schleimhaut, bilden bis zu 30% des Inhalts der Granula von neutrophilen Granulozyten

Antimikrobielle Peptide

- Beim Menschen 3 Gruppen nachgewiesen
- 2) Cathelicidine: befinden sich in Lysosomen von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten

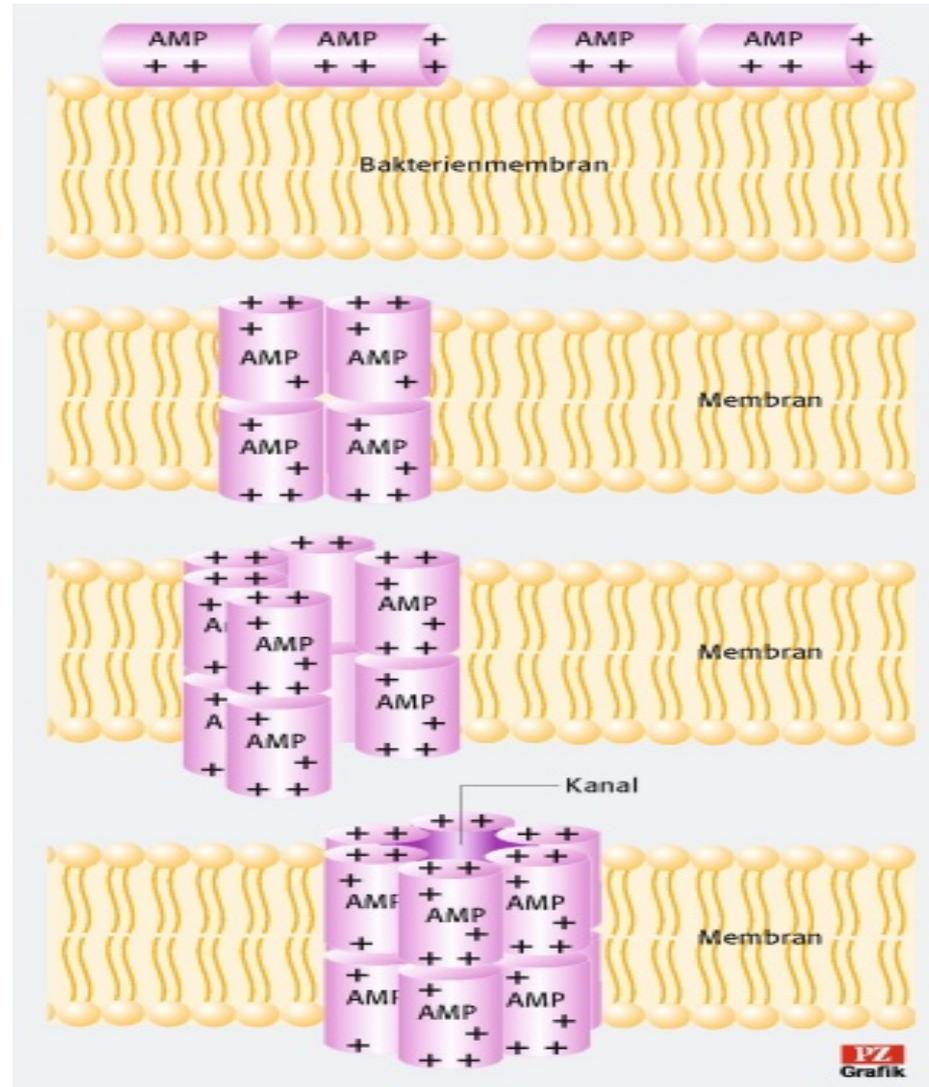
Antimikrobielle Peptide

- Beim Menschen 3 Gruppen nachgewiesen
- 3) Histatine: kommen im Speichel vor.

Wirkungsweise

- Enthalten hohen Anteil basischer Aminosäuren -> unter physiologischen Bedingungen kationische Eigenschaften
- Docken somit an Membran der Pathogene an

Wirkungsweise



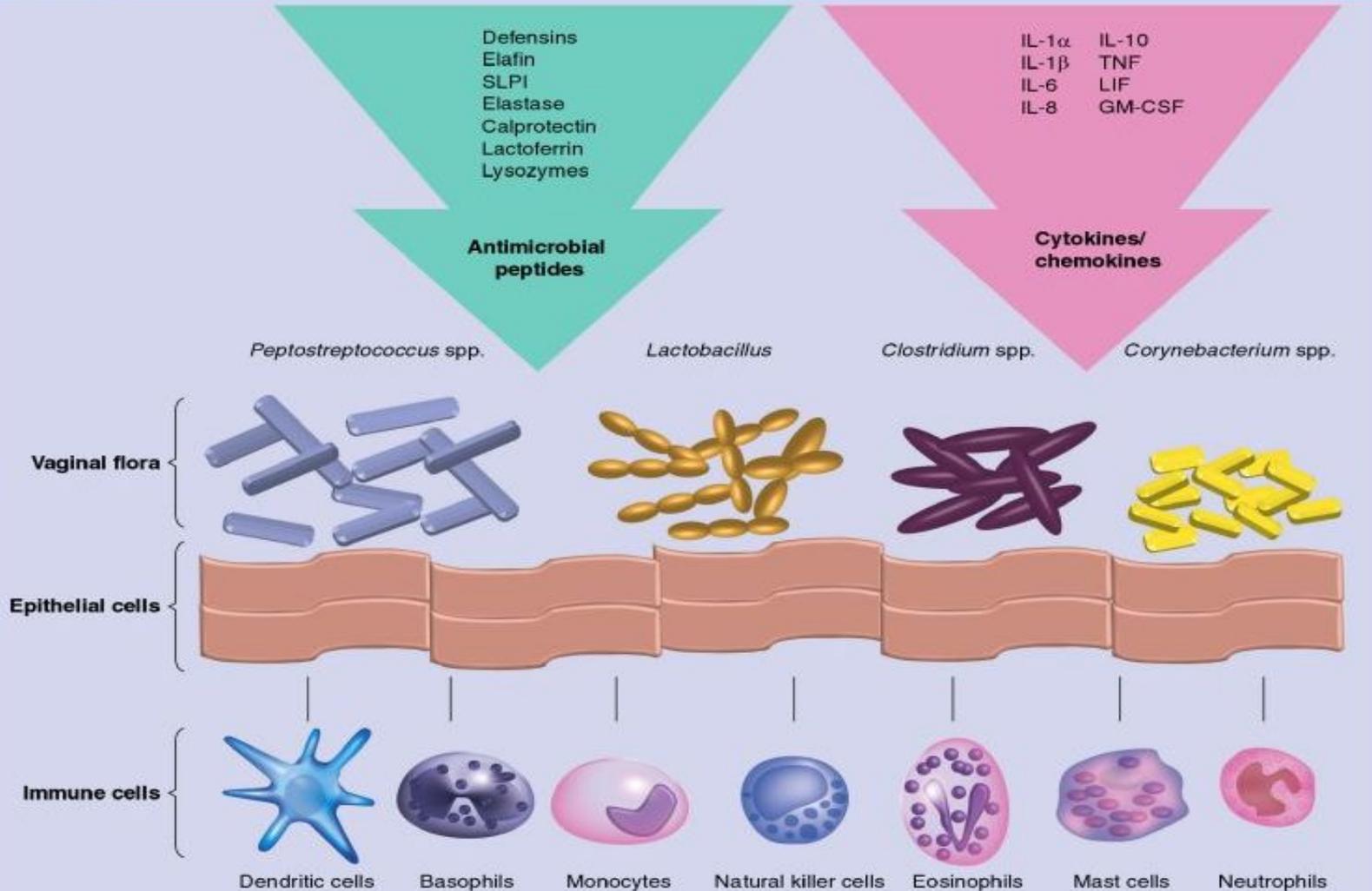
Wirkungsweise

- Störung der Membranintegrität
- Störung des Metabolismus
- Angriff cytoplasmatischer Bestandteile
- Keine Resistenzen bekannt

Hypothese

- Im weiblichen Genitaltrakt besteht eine ständige Bedrohung durch virale, bakterielle und fungale Pathogene.
- Balance zwischen Wachstum der physiologischen Mikroorganismen und eindringender Pathogene daher unerlässlich

Medscape



Expert Rev. Obstet. Gynecol. © Future Science Group (2011)

Vaginale Epithelzellen

- Epithelzellen der vaginalen Mukosa sezernieren
- 1) Chemokine und Cytokine um Zellen des Immunsystems zu rekrutieren
- 2) Antimikrobielle Peptide um Pathogene direkt anzugreifen

Hypothese

- E. Coli-cidale AMPs schützen den Genitaltrakt der Frau vor Infektionen durch E.Coli
- Weiblicher Urogenitaltrakt besonders durch E. Coli gefährdet aufgrund anatomischer Nahebeziehung zu Unterem GI-Trakt.

Psoriasisin

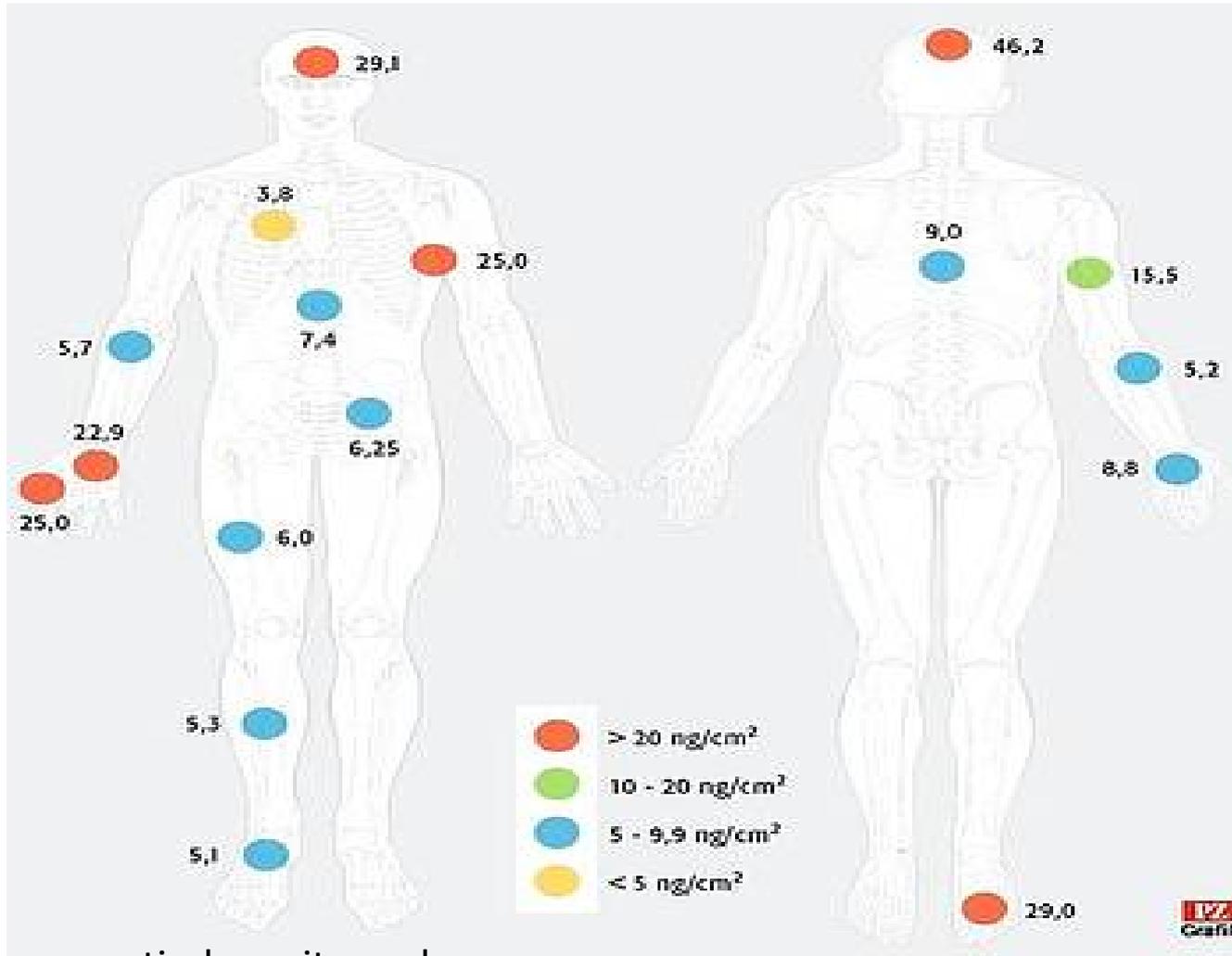
- AMP aus Keratinozyten mit starker Wirkung gegen E. Coli. Wichtigster E. Coli-cidaler Faktor der Haut.

Glaser , R . *et al.* Antimicrobial psoriasin (S100A7) protects human skin from Escherichia coli infection

- Als Hauptinduktor wurde das Flagellum der E. Coli Bakterien identifiziert

Abtin , A . *et al.* Flagellin is the principal inducer of the antimicrobial peptide S100A7c (psoriasin) in human epidermal keratinocytes exposed to *Escherichia coli*

Verteilung Psoriasis



Wirkungsweise Psoriasin

- 1) Hohe Affinität zu Zink, Bestandteil der Kupfer-Zink-Superoxid-Dismutase im Periplasma von Bakterien

Antimicrobial psoriasin protects human skin from E. Coli infection, Gläser R et al.

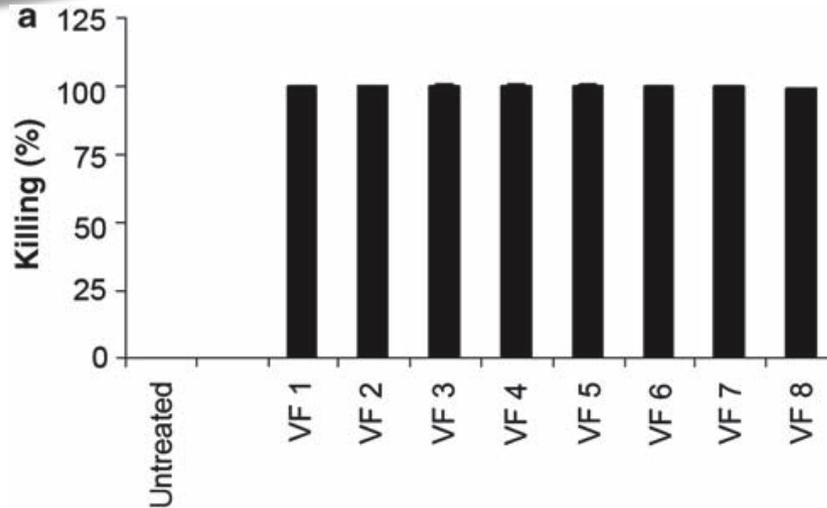
- 2) Permeabilisierung von bakteriellen Membranen

The human antimicrobial protein psoriasin acts by permeabilization of bacterial membranes, Michaelek M et al.

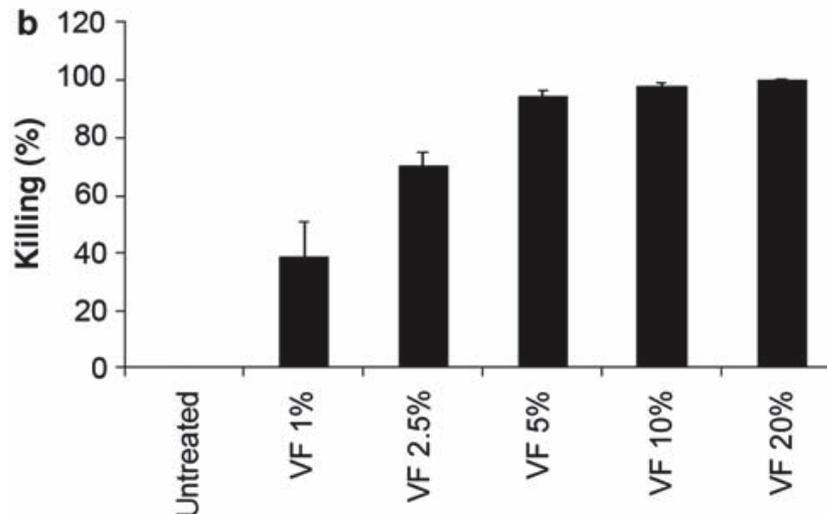
Results

- E. Coli Suspension für 3 Stunden mit 20%igem Vaginalsekret inkubiert, anschließend auf LB Agar aufgetragen und über Nacht inkubiert.
- Weiters wurde das Vaginalsekret auf 10, 5, 2.5 und 1 Prozent verdünnt und auf ihre bakterizide Wirkung untersucht.
- Danach wurden Kolonien gezählt und Anteil der vernichteten berechnet.

Results



a) E. Coli inkubiert mit 20% Vaginallavage von 8 gesunden Spenderinnen für 3 Stunden, danach über Nacht auf LB-Agar.

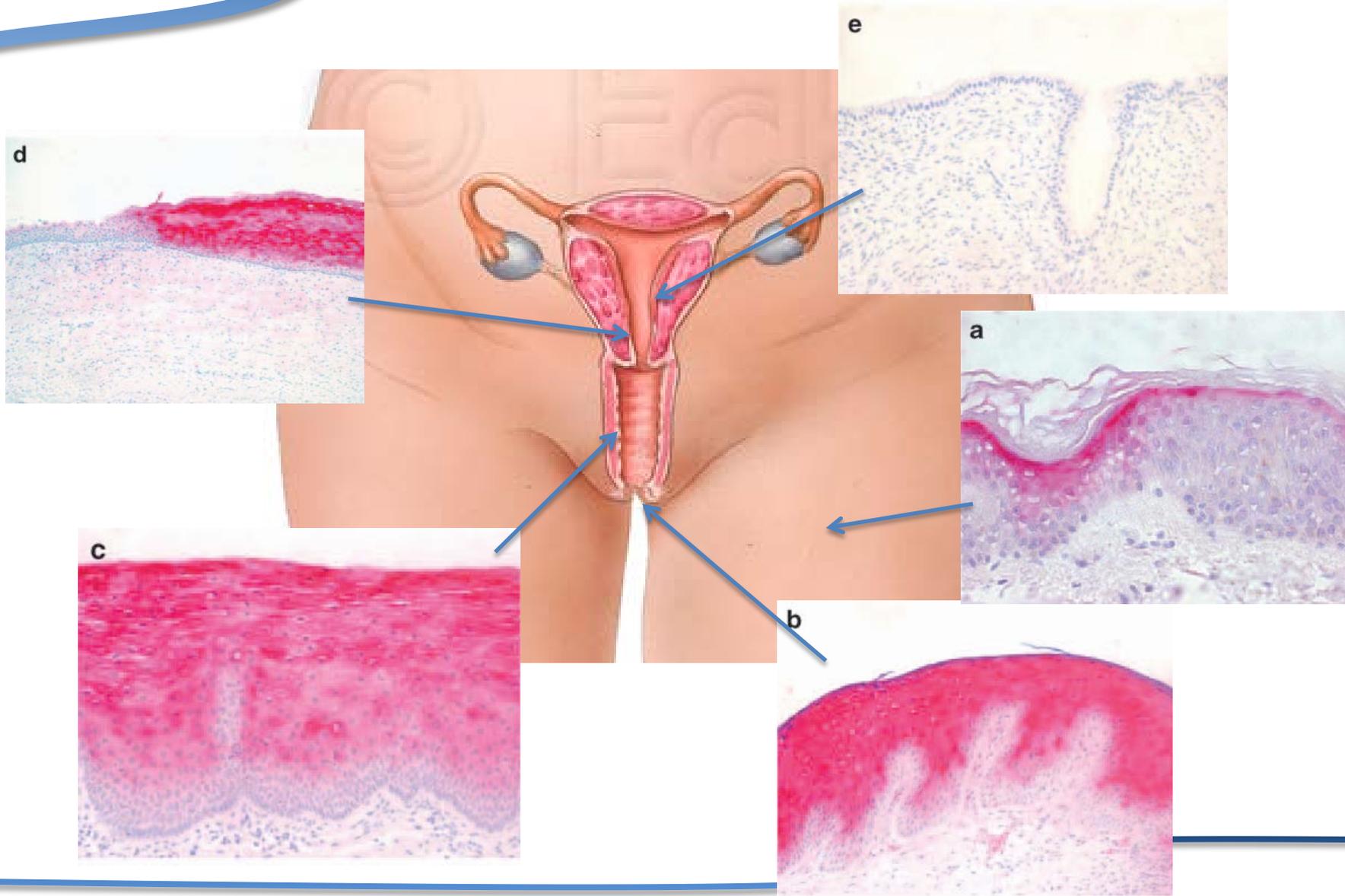


b) E.Coli inkubiert mit zwischen 20 und 1% verdünnten Vaginallavagen für 3 Stunden, danach über Nacht auf LB-Agar. Alle Bakterien wurden bereits bei einer 5%igen Verdünnung vernichtet.

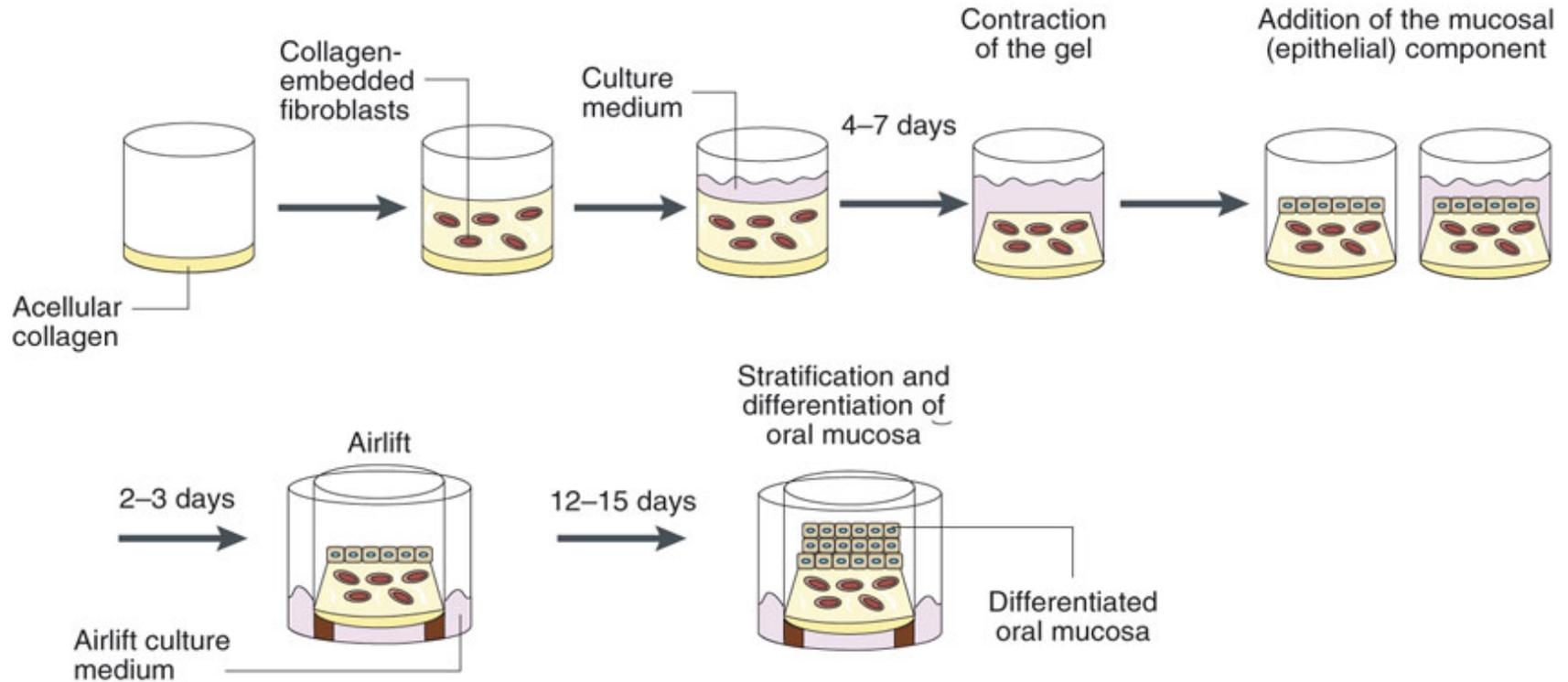
Results

- Um Beteiligung des Psoriasins an der E. Colicidalen Wirkung des Vaginalsekrets nachzuweisen, wurde mit Biopsaten aus Vulva (n=5), Vagina (n=10) und Cervix (n=10) eine Immunhistochemie durchgeführt.

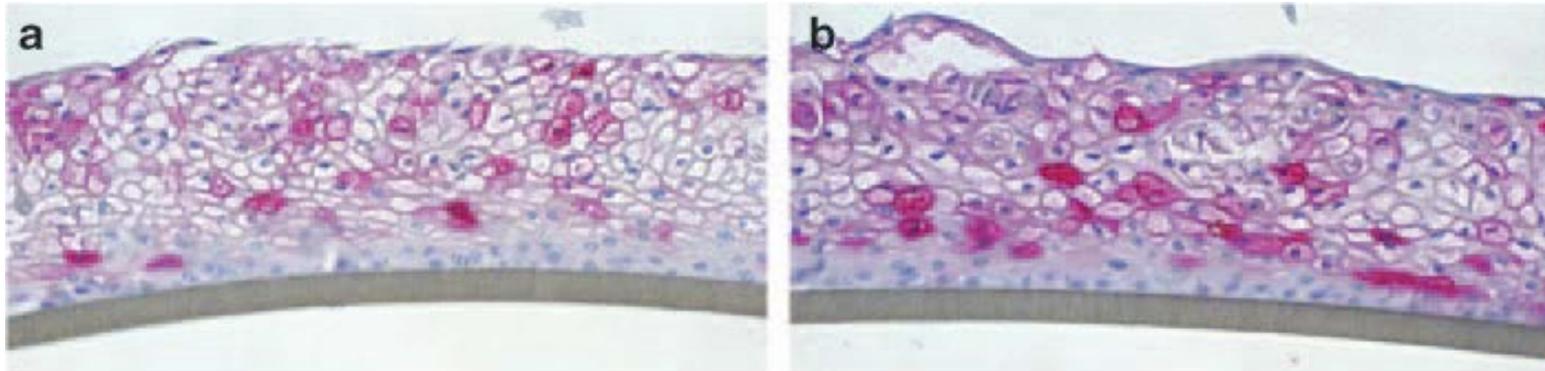
Results



Results

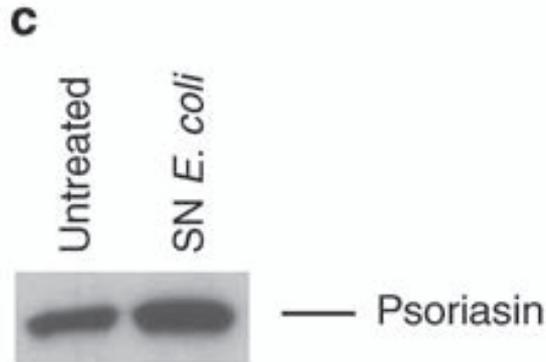


Results

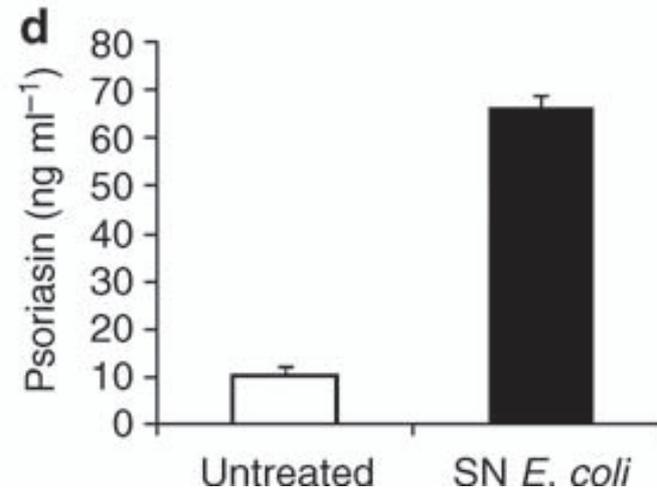


- a) Immunhistochemie des 3D organotypic models unter normalen Bedingungen
- b) Immunhistochemie des 3D organotypic models nach 24h Exposition mit hitzeinaktivierten E.Coli Überständen

Results

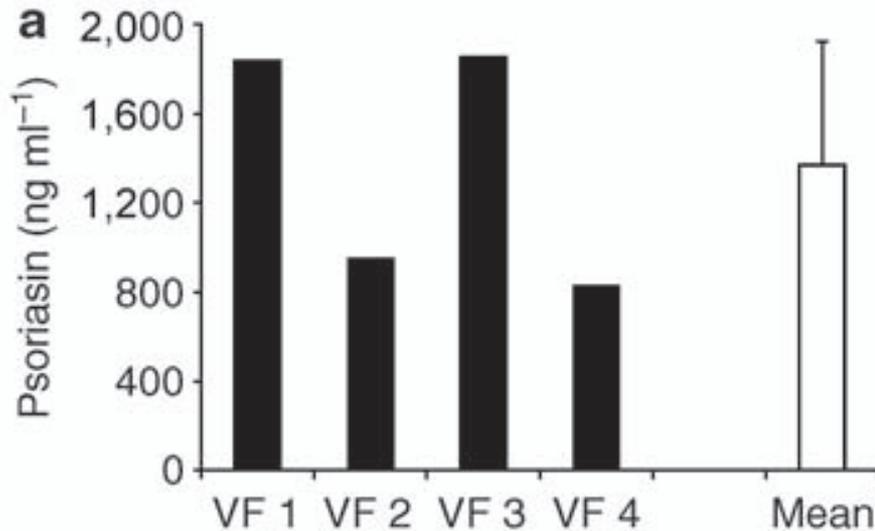


c) Western Blot Analyse ergab eine konstitutive Expression von Psoriasin im organotypic vaginal model.



d) ELISA: Psoriasin im Medium unbehaunder und mit E.Coli Überstand inkubierten Modellen. Im inkubierten Modell Expression um 6.6 faches erhöht

Results

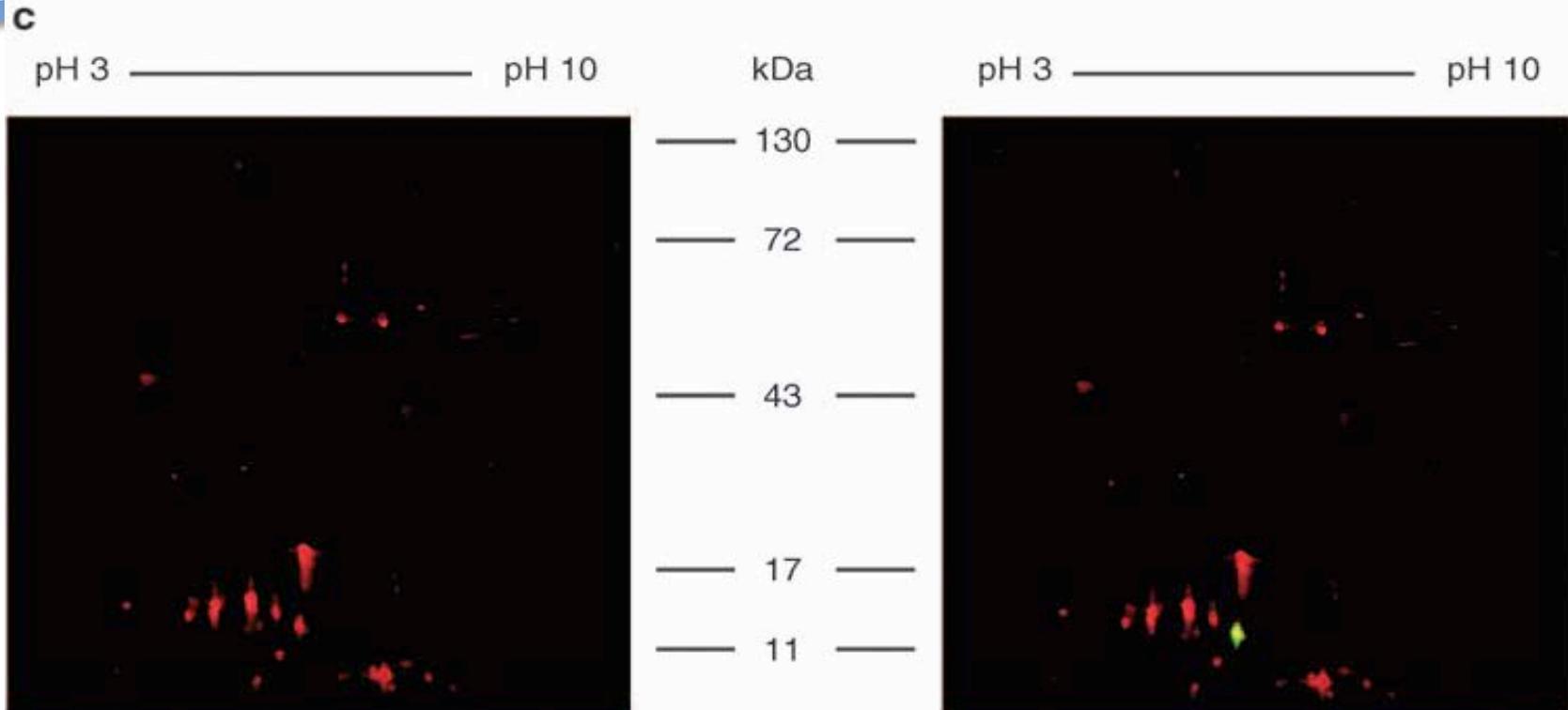


a) Psoriasisin im Vaginalsekret wurde mittels ELISA quantifiziert



b) Western Blot: 3µl Vaginalflüssigkeit (VF1-4), verglichen mit 30µl Stratum Corneum Extrakt.

Results

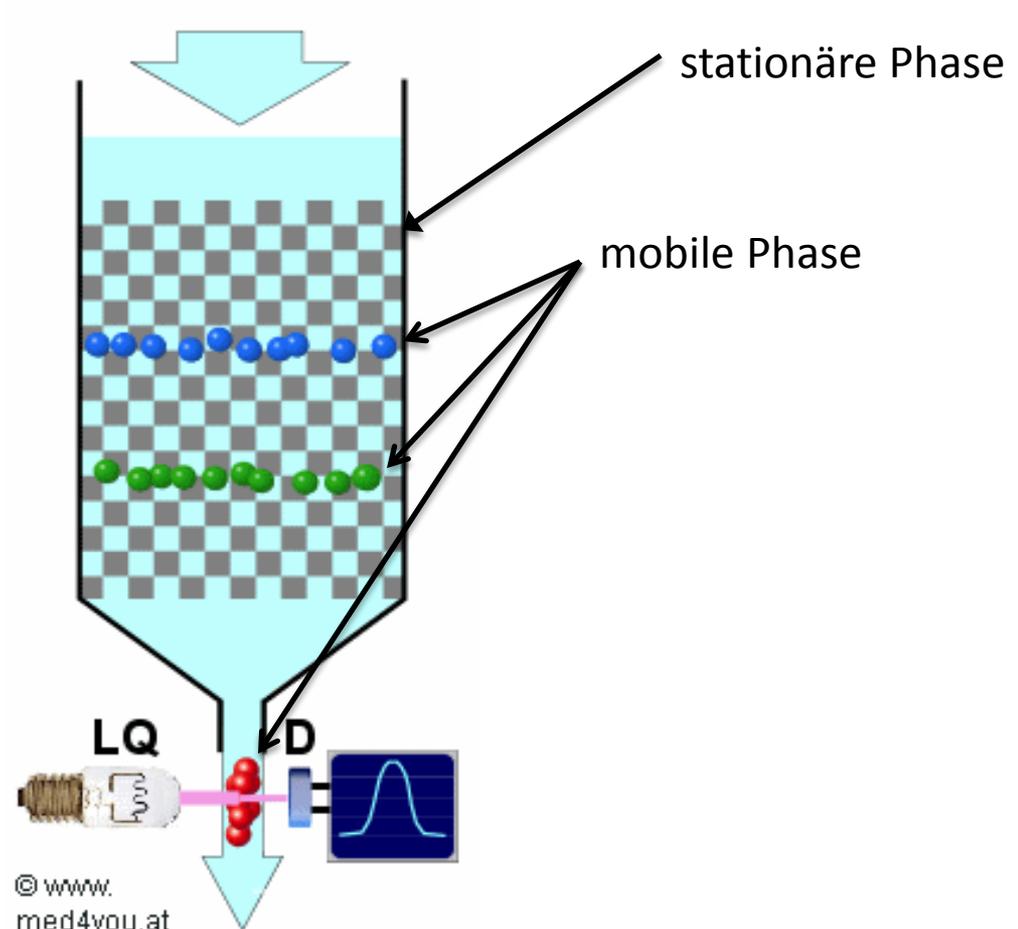


2 Dimensionale Elektrophorese

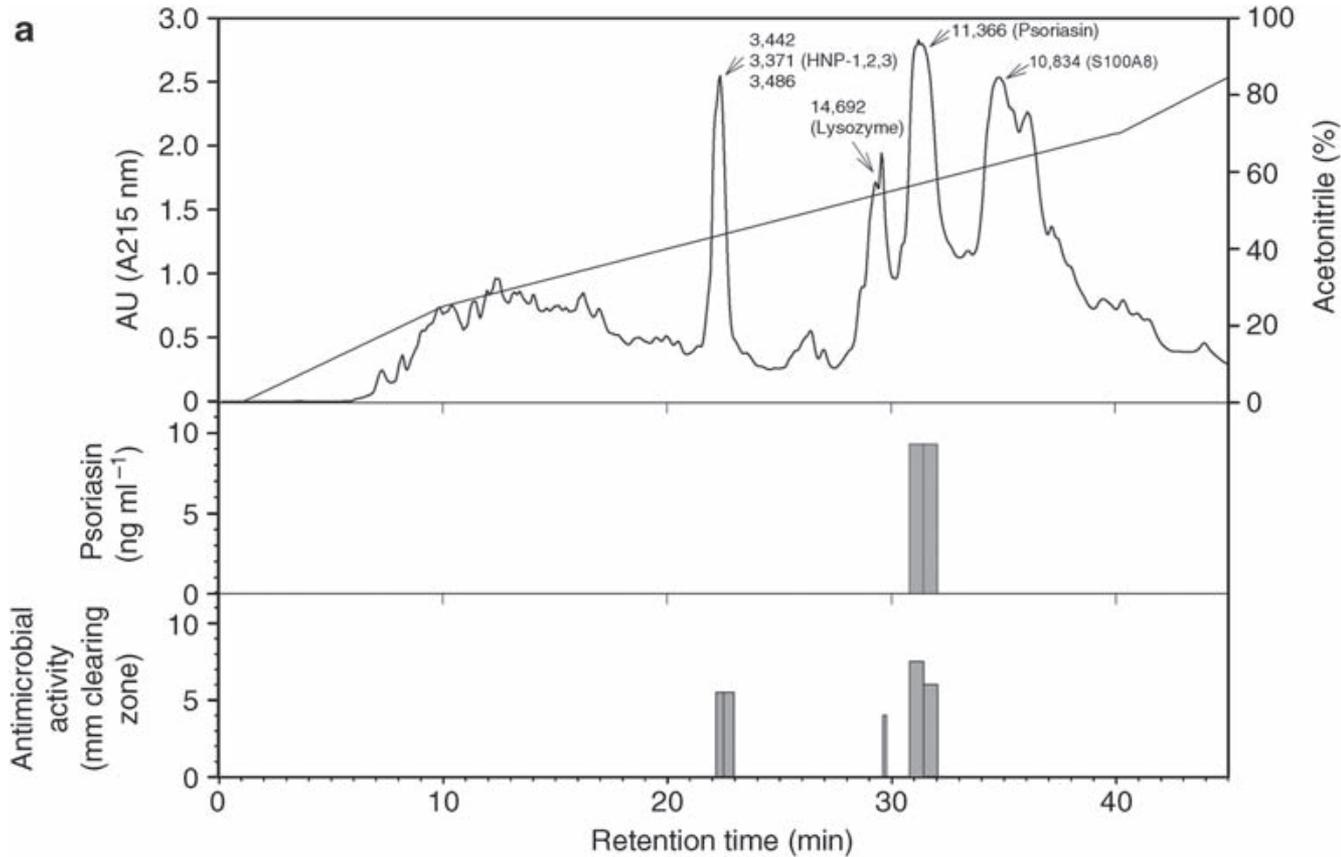
Links- ca. 30 Proteine wurden im Vaginalsekret von gesunden Spenderinnen gefunden

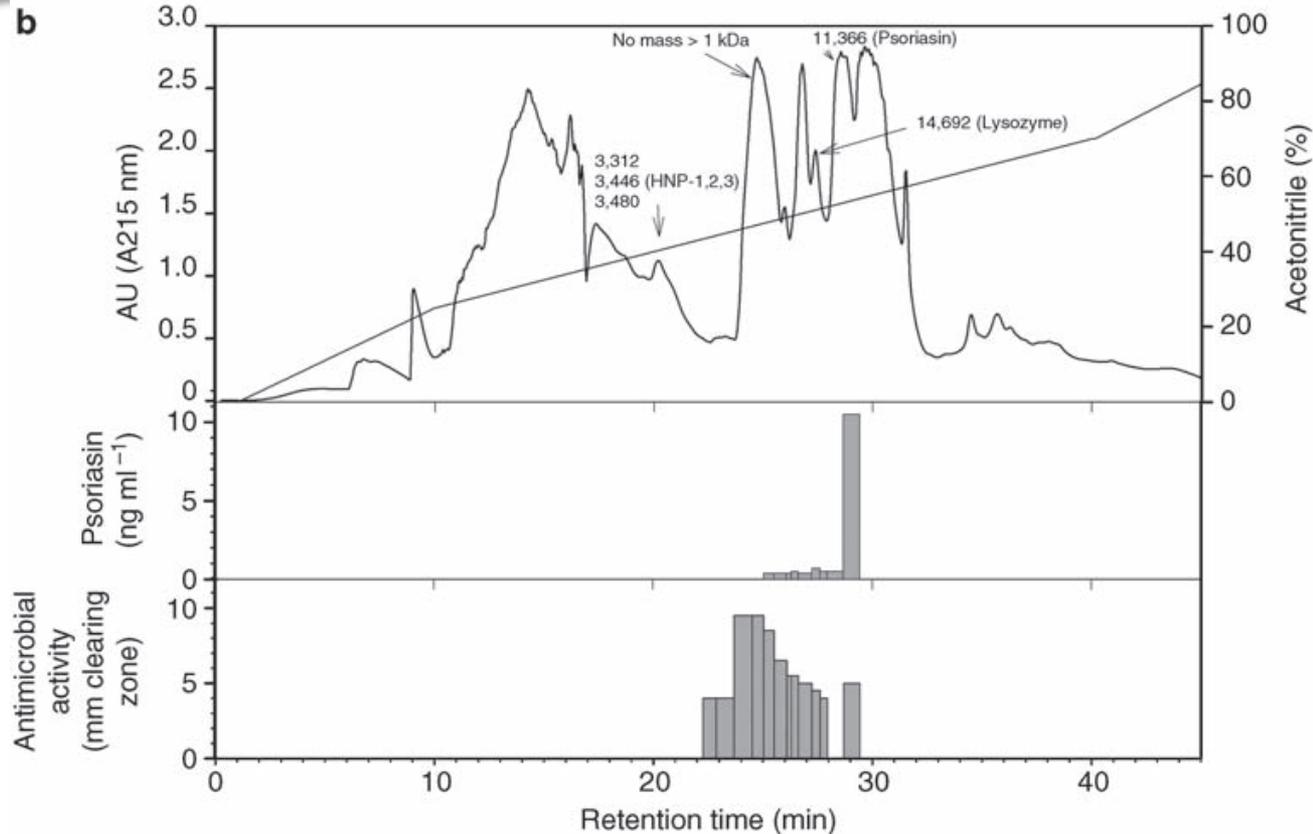
Rechts- Psoriasisin wurde mit einem anti-Psoriasisin Antikörper detektiert
(Anteil am Gesamtprotein 2.5-3%, 11.3kDa, isoelektrischer Punkt 5.6)

HPLC



HPLC



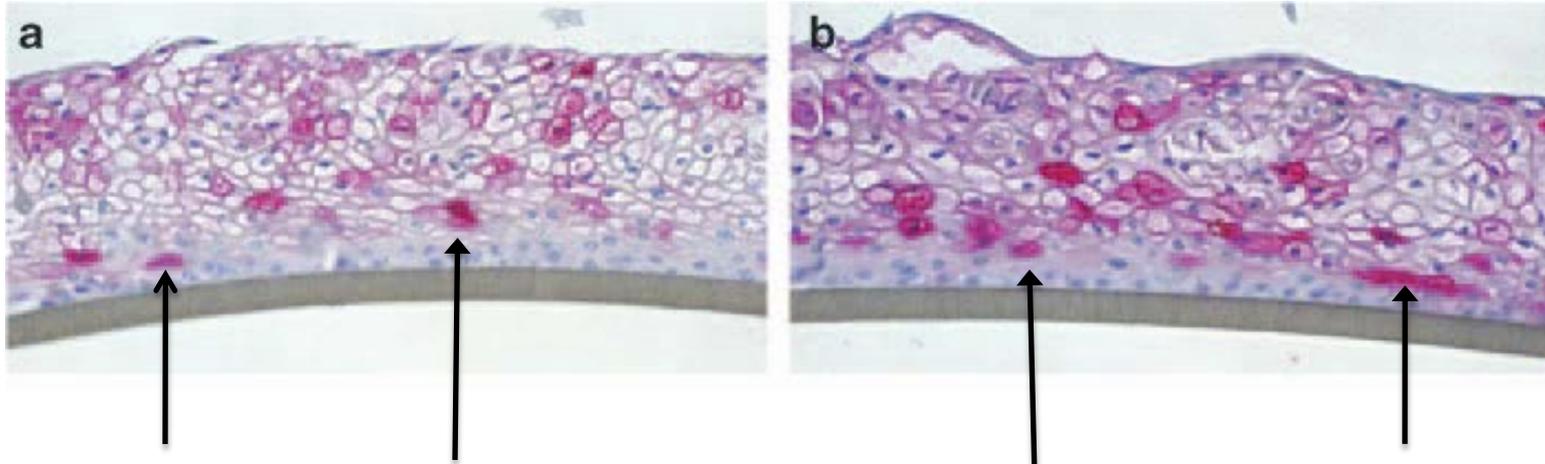


b) Bei 4 von 10 Patientinnen zeigte sich ein weiterer Peak einer unbekanntem niedermolekularen Substanz mit E.Colicidaler Wirkung die in einigen Fällen auch die des Psoriasisin übertraf.

Discussion

- Obwohl E. Coli eines der häufigsten Pathogene im weiblichen Genitaltrakt ist, kommt es- im Gegensatz zu den Harnwegen- nur selten zu Infektionen.
- Im Gegensatz zur normalen Haut wird Psoriasin im weiblichen Genitaltrakt konstitutiv exprimiert, eventuell aufgrund einer ständigen E. Coli Exposition

Discussion



- Subbasale Zellen könnten als Speicher für Psoriasin dienen im Falle einer Beschädigung des Epithels.

- Der höchste Psoriasingehalt der Vaginalflüssigkeit besteht wenn gleichzeitig die AMPs Lysozym und HNP-1 anwesend sind.
- Anwesenheit deutet auf Einwanderung neutrophiler Granulozyten hin, daher könnten auch Cytokine/Chemokine an der Regulierung von Psoriasisin beteiligt sein.

- Die niedermolekulare Substanz die in einigen Proben die E. Colicidale Wirkung von Psoriasin übertraf konnte nicht identifiziert werden.
- Obwohl die Einnahme von Antibiotika ein Ausschlusskriterium darstellte, kann die exogene Herkunft dieser Substanz nicht ausgeschlossen werden.

Summary

- Psoriasin wird von vaginalem Epithel produziert und freigesetzt
- Bis zu 3% der Proteine im Vaginalsekret
- Aufgrund seiner hohen E.Colicidalen Wirkung und seiner konstitutiven Expression spielt es eine wichtige Rolle im angeborenen Immunsystem des weiblichen Genitaltrakts