

**Hasi aorta aneurizmás betegek széklet, vér, thrombus és az
aneurizma fal mintáinak baktérium és gomba mikrobiom
összetételének vizsgálata**

Tézisfüzet

Nemes-Nikodém Éva

Rácz Károly Konzervatív Orvostudományi Tagozat
Semmelweis Egyetem



Témavezető: Dr. habil. Ostorházi Eszter PhD

Hivatalos bírálók: Dr. Csire Márta PhD
Dr. Kardon Tamás PhD

A Szigorlati Bizottság elnöke:

Prof. Dr. Sárdy Miklós PhD

A Szigorlati Bizottság tagjai:

Prof. Dr. Fekete Andrea DSc
Dr. Gulyás Dániel PhD

Budapest

2026

1. Bevezetés

A hasi aorta aneurizma (AAA) olyan kóros állapot, amelyben az aorta veseartériáktól disztálisan elhelyezkedő szakasza progresszív tágulást mutat, ami az ér átmérőjének legalább 150%-os növekedését eredményezi a szomszédos, nem beteg szakaszhoz képest. A krónikus aortabetegség életveszélyes következményekkel járhat, beleértve a megrepedt hasi aorta aneurizmát, amelynek halálozási aránya meghaladja a 80%-ot.

Az érfalon belüli kóros elváltozások az immunsejtek által közvetített gyulladásos folyamatokból és a mediális réteg következményes lebomlásából erednek. A betegség kialakulásának főbb kockázati tényezői közé tartozik a dohányzás, a férfi nem, a pozitív családi kórtörténet, az előrehaladott életkor, a magas vérnyomás, a hiperkoleszterinémia, az elhízás, valamint számos szív- és érrendszeri és perifériás érrendszeri betegség. Számos tanulmány kimutatta, hogy a bélmikrobiom összetétele hozzájárul a kockázati tényező betegségek előrehaladásához vagy közvetlenül az aneurizma kialakulásához, progressziójához.

Ebben a doktori disszertációban egészséges egyének és aneurizmás betegek érfalainak mikrobiom profiljait, és az AAA betegek thrombus, vér, széklet mikrobiomjának összetételét vizsgáltuk, mind baktériumok, mind gombák tekintetében. A mikrobiom összetételét a bakteriális 16S rRNA gén alapján határoztuk meg. A bakteriális 16S rRNA egy riboszomális RNS, amely a prokarióta riboszóma kis alegységében található, és elengedhetetlen a fehérjeszintézishez. A 16S rDNS kilenc hipervariábilis régiót (V1-V9) tartalmaz, amelyekből a V3-V4 szegmenseket amplifikáltuk, amelyeket széles körben használnak a baktériumok azonosítására szolgáló szekvenálásban.

A gomba mikrobiom összetételének vizsgálatára az Internal Transcribed Spacer (ITS) egy specifikus DNS-régióját használtuk, amelyet széles körben használnak univerzális vonalkódként a gombák azonosítására és osztályozására a nagyfokú variabilitása és egyedi szekvenciái miatt. Ez a régió a riboszomális RNS-gének között található, és kulcsfontosságú a gombák biodiverzitásának, ökológiájának és evolúciójának tanulmányozásában.

2. Célok

A disszertáció fő céljai voltak, hogy elsőként vizsgálja meg az aorta aneurizmás betegek érfalának, thrombusának, vérének és székletének baktérium és gomba mikrobiomösszetételét, ez alapján

- meghatározni, hogy az aneurizma bakteriális mikrobiom eltér-e az egészséges érfal bakteriális mikrobiomjától.
- az aneurizmás betegek különböző mintáira - thrombus, vér és széklet - jellemző baktérium mikrobiom összetétel kimutatásával annak megvizsgálása, hogy az aneurizmás érfalban jelen lévő baktériumok származhatnak-e a székletből, és eljuthatnak-e oda a véráramlás útján.
- hogy az aneurizma bakteriális mikrobiomjának enzimatis aktivitása hozzájárulhat-e az érfal károsodásához.
- hogy az egészséges ér falára jellemző gomba mikrobiom különbözik-e az aneurizmás ér falára jellemző mikobiotikus flórától.
- hogy az aneurizmás betegek különböző mintáiban kimutatott gomba mikrobioma jelen van-e a székletben is, és eléri-e az ér falát a vér útján.
- felismerni gombafajokat, amelyek szerepet játszhatnak az egészséges vérér falak védelmében vagy az aneurizmák kialakulásában és progressziójában.

3. Módszerek

3.1. Mintavétel

Ebbe a prospektív PhD vizsgálatba huszonnégy, hasi aorta aneurizmával diagnosztizált beteget vontunk be, akik 2022 márciusától 2023 februárjáig estek át sebészeti beavatkozáson a Semmelweis Egyetem Szív- és Érgyógyászati Központ Ér- és Endovaszkuláris Sebészeti Osztályán. Egészséges negatív kontrollként a vizsgálatban 12 szervdonortól származó femorális artéria mintát vizsgáltunk. Az AAA betegektől az aneurizma fal mellett, thrombus, vér és széklet mintát gyűjtöttünk a vizsgálatához.

3.2. DNS izolálás

A DNS izolálását vérmintákból a NucleoSpin Blood, Mini kit (Macherey-Nagel, Allentown, PA, USA), míg aneurizma-, thrombus- és székletmintákból a ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research Corp., Irvine, CA, USA) segítségével végeztük a gyártó utasításainak megfelelően.

3.3. Bakteriális és gomba mikrobiom analízis

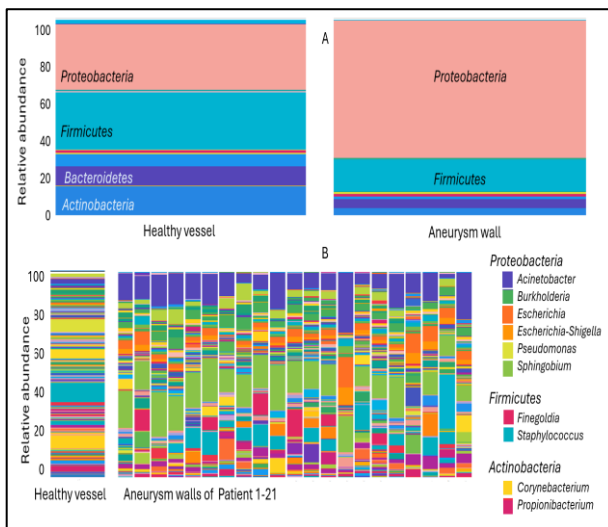
A bakteriális DNS-t amplifikáltuk a bakteriális 16S rRNA gén V3-V4 régióját lefedő jelölt primerekkel. A PCR-t és a DNS tisztítását az Illumina protokollja szerint végeztük. A gomba mikrobiom vizsgálatát az ITS alapján az Illumina standard protokollját kissé módosítva alkalmaztuk. A PCR termékkönyvtárat DNA 7500 Kit/DNA 1000 Kit és Agilent Bioanalyser segítségével értékeltük. A könyvtárak ekvimoláris koncentrációit összegyűjtöttük és szekvenáltuk Illumina Miseq platformon Miseq Reagent Kit V3 felhasználásával. A nyers szekvenálási adatokat az Illumina BaseSpace-ből gyűjtöttük le, és az adatokat a CosmosID bioinformatikai platformmal elemeztük. A mikrobiom

bakteriális közösségének funkcionális képességeit és mennyiségét az amplikontartalom alapján a CosmosID PICRUST2 eszközével monitoroztuk.

4. Eredmények

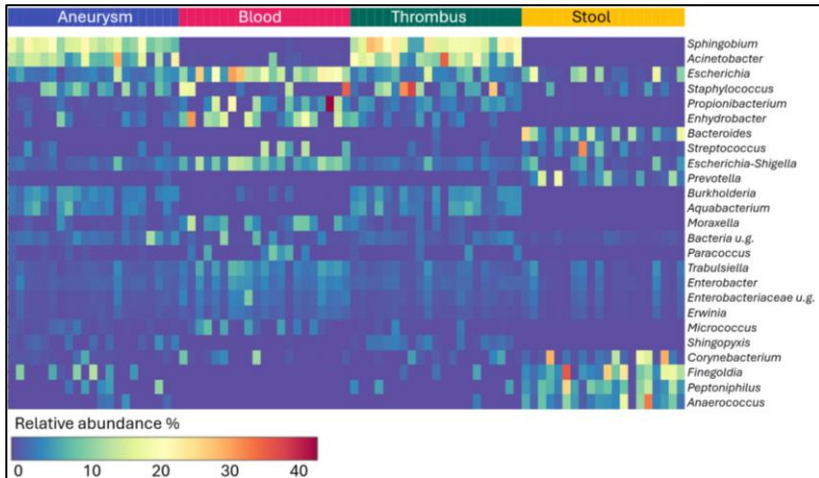
4.1. Bakteriális mikrobiom

Az egészséges és aneurizmás érfal bakteriális mikrobiom összetétele szignifikáns különbséget mutatott alfa és béta diverzitás alapján, mindkét csoport jellemzően négy taxonból áll, különbség az abundanciában található, miszerint az egészséges érfalban *Proteobacteria* 34%, *Firmicutes* 29%, *Bacteroidetes* 10%, *Actinobacteria* 15%, ezen taxonok megoszlása aneurizmás érfalban 71%, 14%, 4%, 4%. Taxonokon belüli nemzetségek abundanciája szintén különbséget mutatott az egészséges és az aneurizmás érfalból származó mikrobiomban. Normál érfalban *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, míg a beteg érfalban *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Escherichia*, *Escherichia-Shigella*, *Sphingobium*, *Finegoldia* nemzetségek abundanciája szignifikánsan magasabb volt (**1. ábra**).



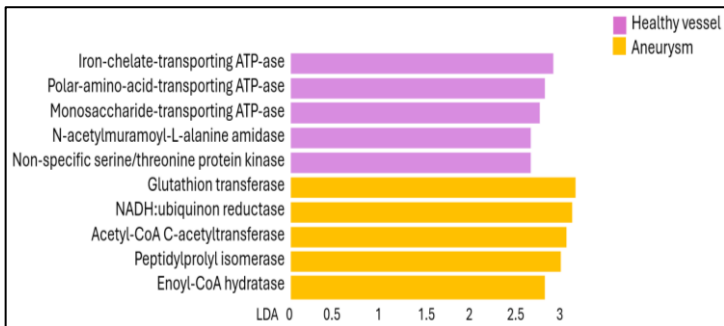
1. ábra Az egészséges és aneurizmás érfal mikrobiomjának relatív taxonbősége: (A) törzs szintű, (B) nemzetség szintű megoszlás

AAA betegek különböző mintáinak a bakteriális mikrobiom összetételét megvizsgálva béta diverzitás alapján a mintatípusok elkülönült csoportokat alkotnak. A székletben nagy mennyiségben előfordul *Finegoldia*, *Peptoniphilus*, *Bacteroides*, *Anaerococcus* és *Prevotella* nemzetségek nem voltak kimutathatók a vérben. Míg a vérben újonnan megjelenő *Enhydrobacter* és *Cutibacterium* és az ismertebb *Propionibacterium*, *Moraxella* nemzetségek gyakoribbak voltak az aneurizmában és thrombusban, de nem voltak jelen a székletben. Az aneurizma és thrombus falában jellemző baktérium nemzetségeket, *Sphingobium*, *Acinetobacter*, *Aquabacterium*, vér- és székletmintában nem vagy nagyon kis mennyiségben volt kimutatható. *Escherichia* és az *Escherichia-Shigella* nemzetségek nagy mennyisége a bélmikrobiomból származhat, mivel a székletben is nagy mennyiségben fordul elő (2. ábra).



2. ábra Hőterkép az aneurizma-, vér-, trombus- és székletmintákban kimutatott 25 legnagyobb relatív abundanciájú nemzetségekről

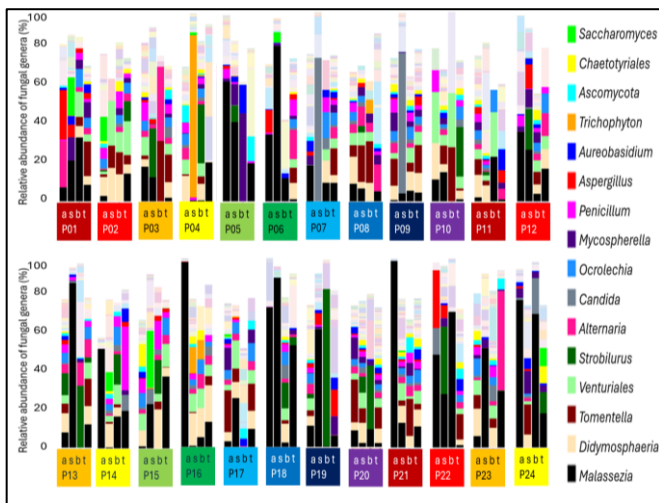
Megvizsgálva a mikrobiomban jelenlévő baktériumok enzimaktivitását a CosmosID PICRUST2 program alkalmazásával, különbség figyelhető meg az egészséges és az aneurizmás érfalban, a normál érfalra jellemző mikrobiomjai több vas-kelát-transzportáló ATP-áz, poláris aminosav-transzportáló ATP-áz, monoszacharid-transzportáló ATP-áz, N-acetilmuramoi-L alanin-amidázt és nem specifikus szerin/treonin protein kinázt tartalmaz, míg a beteg érfal magasabb glutation-transzferázt, NADH:ubikinon-reduktázt, acetyl-CoA C-acetyltranszferázt, peptidilprolil-izomerázt és enoil-CoA hidratázt tartalmaz (**3. ábra**).



3. ábra A szignifikánsan eltérő, prediktált enzimaktivitások LEfSe oszlopdiagramon történő ábrázolása az egészséges kontroll és az aneurizmás érfal mikrobiom-összetételei között

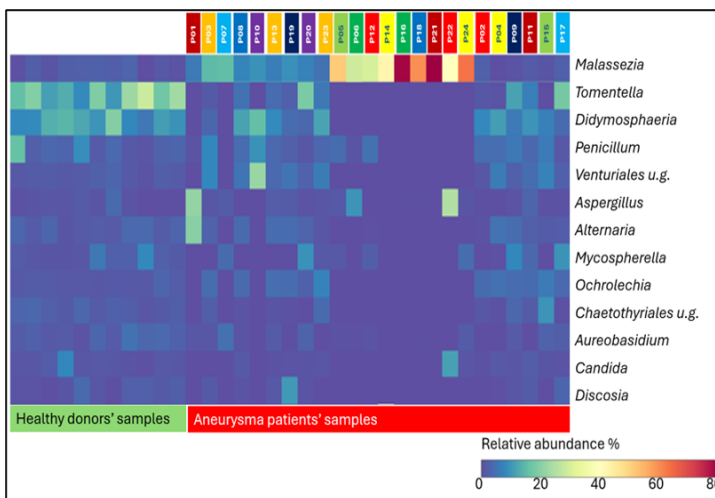
4.2. Gomba mikrobiom

A gomba mikrobiomot tekintve a négy különböző anatómiai helyről származó minta szignifikánsan eltérő összetételt mutatott mind alfa, mind béta diverzitásban. A négy mintatípust személyenként megvizsgálva a gomba nemzetségek összetétele a P08, P20 beteg mintái hasonló eloszlást mutattak, míg a P04, P07 teljesen eltértek. A P05, P06, P12, P18 magas *Malassezia* (20%) arány az aneurizmában és széklemben párhuzamosan igazolható, ami a P22 betegben a vérrel transzlokálódhat. A P24 páciens *Malassezia* abundanciája mind az aneurizmában, mind a vérben magas, elleneben a P14, P16, P21 esetében a magas *Malassezia* csak az aneurizmára jellemző (4. ábra).



4. ábra A gombanemzetségek relatív abundanciájának halmazott oszlopdiagramon történő ábrázolása egyénenként négy különböző mintatípusban: a – aneurizma, b – vér, s – széklet, t – thrombus

Az egészséges és aneurizmás érfalak mikrobiomját összehasonlítva a *Tomentella* (20,94%) és a *Didymosphaeria* (13,36%) nemzetségek szignifikánsan magasabb gyakoriságát találtuk az egészséges régiókban, míg az aneurizmákban a fő résztvevő a *Malassezia* (28,9%) volt nagyobb mennyiségben jelen, emelkedett abundanciájú *Venturiales* (6,37%) nemzetség mellett. Az aneurizma minták mikrobiom összetétele *Malassezia* alapján három csoportra osztható. Az elsőben magas *Malassezia* mellett *Tomentella* és *Didymosphaeria* hiányzik a mintákból. A következő csoportban a *Malassezia* mennyiségének csökkenésével a két másik nemzetség mennyisége növekszik, míg az utolsó csoportban a *Malassezia* hiányában is a *Tomentella* (7,8%), a *Didymosphaeria* (9,3%) alacsonyabb gyakorisággal jelenik meg az egészséges érfalhoz képest ami (20,94% és 13,36%) (**5. ábra**).



5. ábra Az egészséges és aortaaneurizmás minták gomba-összetételének hőterképes megjelenítése

5. Következtetések

Kutatásunkban jelentős különbséget igazoltunk az egészséges és az aneurizmás érfal baktérium és gomba mikrobiom összetétele között. A négy mintatípus egyedi vizsgálatakor nem tudtuk sem megerősíteni, sem kizárni a bél-érfal-tengely létezését, de feltételezzük, hogy az érfalban kimutatott mikrobiom a bélén kívül más anatómiai helyekről is származhat, mint például szájüreg, bőr, húgyutak. Az egészséges érfalra és az aneurizmára jellemző eltérő bakteriális enzimaktivitások védő vagy fokozó hatással lehetnek az aneurizma kialakulására. A lokális vasfelhalmozódás az érfalon belül hozzájárul az AAA kialakulásához, az egészséges érfalban lévő baktériumok magas vaskelátot szállító ATP-áz aktivitást mutatnak. AAA-ban egyes aminosavak metabolizmusának rendellenessége tapasztalható, a poláris aminosavat szállító ATP-áz szintén védő hatású. Míg az aneurizmás mintákban magas bakteriális peptidilprolil izomeráz enzimaktivitása

hozzájárul az AAA progressziójához. Megvizsgálva a mikrobiomban jelenlévő gomba nemzetségek eltérését az egészséges és az aneurizmás érfalban, mi is alátámasztjuk a *Malassezia* gyulladásokkeltő, *Tomentella* gyulladáscsökkentő hatását. Annak ellenére, hogy a gombák a teljes mikrobiom csekély részeként szerepelnek szintén szerepük lehet az AAA progressziójában. A mikrobiomban résztvevő baktériumok és gombák közvetlen és közvetve hozzájárulnak az egészséges érfal fenntartásához illetve az aneurizma kialakulásához. Ezeknek tudatában potenciális terápiás útvonalak nyílhatnak, pl. célzott gombaellenes kiegészítő terápiák alkalmazása, melyek segíthetnek a gyulladás csökkentésében illetve az AAA kialakulásának megelőzésében.

6. Publikációs lista

6.1. A fokozatszerzéshez kapcsolódó publikációk

1. **Nemes-Nikodem E**, Gyurok GP, Dunai ZA, Makra N, Hofmeister B, Szabo D, Sotonyi P, Hidi L, Szappanos A, Kovacs G, Ostorhazi E. Relationship between Gut, Blood, Aneurysm Wall and Thrombus Microbiome in Abdominal Aortic Aneurysm Patients. *Int J Mol Sci.* 2024;25(16):8844. **Impact factor:4.9**
2. **Nemes-Nikodem E**, Gyurok GP, Dunai ZA, Makra N, Hofmeister B, Szabo D, Sotonyi P, Hidi L, Szappanos A, Kovacs G, Ostorhazi E. Mycobome of Stool, Blood, Thrombus and Vessel Wall in Abdominal Aortic Aneurysm Patients. *Mycopathologia.* 2025;190(6):96. **Impact factor: 2.9**

6.2. A disszertációhoz nem kapcsolódó publikációk

1. Joura MI, Nemes-Nikodem E, Jobbagy A, Dunai ZA, Makra N, Banvolgyi A, Kiss N, Sardy M, Sandor SE, Hollo P, Ostorhazi E. Integrative Analysis of Fungal and Bacterial Microbiomes Across Skin, Blood, and Stool in Rosacea Patients *Int. J. Mol. Sci.* (2025) Aug 26;(17):8127. doi: 10.3390/ijms26178127. **Impact factor: 4.9**
2. Monyok A, Mansour B, Vadnay I, Makra N, Dunai ZsA, Nemes-Nikodem E, Stercz B, Szabo D, Ostorhazi E. Change in Tissue Microbiome and Related Human Beta Defensin Levels Induced by Antibiotic Use in Bladder Carcinoma. *Int J Mol Sci.* 2024;25:4562. **Impact factor: 4.9**
3. Szabo E*, Nemes-Nikodem E*, Vass KR, Zambo Z, Zrupko E, Torocsik B, Ozohanics O, Nagy B, Ambrus A. Structural and Biochemical Investigation of Selected Pathogenic Mutants of the

Human Dihydrolipoamide Dehydrogenase. Int. J. Mol. Sci. (2023) Jun 28;24(13):10826. doi: 10.3390/ijms241310826. **Impact factor:**

4.9

*megosztott első szerző

4. Joura MI, Brunner A, Nemes-Nikodem E, Sardy M, Ostorhazi E. Interactions between immune system and the microbiome of skin, blood and gut in pathogenesis of rosacea. Acta Microbiol Immunol Hung. (2021) Jan 29;68(1):1-6. doi: 10.1556/030.2021.01366.. **Impact factor: 2.298**
5. Lengyel G, Marossy A, Anosi N, Farkas SL, Kele B, Nemes-Nikodem E, Szentgyorgyi V, Kopcsó I, Matyus M. Screening of more than 2000 Hungarian healthcare workers' anti-measles antibody level: results and possible population-level consequences. Epidemiol Infect. (2018) Sep 11:1-5. doi: 10.1017/S0950268818002571.. **Impact factor: 2.047**
6. Brunner A, Nemes-Nikodem E, Jeney C, Szabo D, Marschalko M, Karpati S, Ostorhazi E. Emerging azithromycin-resistance among the Neisseria gonorrhoeae strains isolated in Hungary. Ann Clin Microbiol Antimicrob.(2016) Sep 20;15(1):53. doi: 10.1186/s12941-016-0166-9. **Impact factor: 2.376**
7. Csavas M, Miskovics A, Szucs Z, Roth E, Nagy ZL, Bereczki I, Herczeg M, Batta G, Nemes-Nikodem E, Ostorhazi E, Rozgonyi F, Borbas A, Herczegh P. Synthesis and antibacterial evaluation of some teicoplanin pseudoaglycon derivatives containing alkyl- and arylthiosubstituted maleimides. J Antibiot (Tokyo). (2015) Sep;68(9):579-85. doi: 10.1038/ja.2015.33. **Impact factor: 2.173**
8. Nemes-Nikodem E, Brunner A, Toth B, Toth V, Banvolgyi A, Ostorhazi E. Antimicrobial resistance of Neisseria gonorrhoeae

- strains in Hungary. *Orv Hetil.*(2015) Feb 8;156(6):226-9. doi: 10.1556/OH.2015.30079. Hungarian. **Impact factor: 0.291**
9. Nemes-Nikodem E, Tamasi B, Mihalik N, Ostorhazi E. Yeast species in vulvovaginitis candidosa. *Orv Hetil.* (2015) Jan 4;156(1):28-31. doi: 10.1556/OH.2015.30081. Hungarian. **Impact factor: 0.291**
 10. Nemes-Nikodem E, Brunner A, Pinter D, Mihalik N, Lengyel G, Marschalko M, Karpati S, Szabo D, Ostorhazi E. Antimicrobial susceptibility and genotyping analysis of Hungarian *Neisseria gonorrhoeae* strains in 2013. *Acta Microbiol Immunol Hung.*(2014) Dec;61(4):435-45. doi: 10.1556/AMicr.61.2014.4.5. **Impact factor: 0.778**
 11. Brunner A, Nemes-Nikodem E, Mihalik N, Marschalko M, Karpati S, Ostorhazi E. Incidence and antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from patients attending the national *Neisseria gonorrhoeae* reference laboratory of Hungary. *BMC Infect Dis.* (2014) Aug 6;14:433. doi: 10.1186/1471-2334-14-433. **Impact factor: 2.613**
 12. Ostorhazi E, **Nemes-Nikodem E**, Knappe D, Hoffmann R. In vivo activity of optimized apidaecin and oncocin peptides against a multiresistant, KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* strain. *Protein Pept Lett.* (2014)Apr;21(4):368-73. **Impact factor: 1.068**
 13. Bereczki I, Kicsak M, Dobray L, Borbas A, Batta G, Keki S, Nikodem EN , Ostorhazi E, Rozgonyi F, Vanderlinden E, Naesens L, Herczegh P Semisynthetic teicoplanin derivatives as new influenza virus binding inhibitors: synthesis and antiviral studies. *Bioorg Med Chem Lett.* (2014)Aug 1;24(15):3251-4. doi:

10.1016/j.bmcl.2014.06.018. Epub 2014 Jun 16. **Impact factor: 2.42**

14. Mihalik N, Nemes-Nikodem E, Mathe M, Rozgonyi F, Karpati S
Onychomycosis- A kórokozók fajspektruma és terápia.
Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle (2013) 89;95-98.
15. Ostorhazi E, Voros E, Nemes-Nikodem E, Pinter D, Sillo P, Mayer
B, Wade JD, Otvos L Jr. Rapid systemic and local treatments with
the antibacterial peptide dimer A3-APO and its monomeric
metabolite eliminate bacteria and reduce inflammation in
intra-dermal lesions infected with *Propionibacterium acnes* and
meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents*.
(2013) Dec;42(6):537-43. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2013.08.001.
Epub 2013 Sep 7. **Impact factor: 4.259**
16. Ponyai K, Kelemen Zs, Nemes-Nikodem E, Ostorhazi E, Voros L,
Rozgonyi F, Nyirady P, Varkonyi V, Karpati S, Marschalko M. A
penis paraffin granulomája. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*
(2013) 89;39-45.
17. Nemes-Nikodem E, Voros E, Ponyai K, Parducz L, Karpati S,
Rozgonyi F, Ostorhazi E. The importance of IgM positivity in
laboratory diagnosis of gestational and congenital syphilis. *Eur J*
Microbiol Immunol (Bp). (2012) Jun;2(2):157-60. doi:
10.1556/EuJMI.2.2012.2.9. Epub 2012 Jun 13.