

**Genetikai faktorok szerepe az allergiás rhinitis
pathomechanizmusában**
**A TNF- α -238, -308 promoter, a TLR-4 Asp299Gly és
Thr399Ile és a PPAR- α , PPAR- γ Pro12Ala
polimorfizmusainak kapcsolata a klinikai tünetekkel és a
sTNF- α , sFas szintek alakulásával**

Doktori értekezés

Dr. Krasznai Magdolna

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Cseh Károly, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Tamási Lilla, egyetemi adjunktus

Dr. Major Tamás, főorvos

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Falus András, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Farkas Henriette, egyetemi docens

Dr. Tóta Julianna, egyetemi docens

Budapest
2011

TARTALOMJEGYZÉK

Tartalomjegyzék	2
Rövidítések jegyzéke	6
I. Bevezetés (irodalmi háttér)	10
1.1. Az allergiás rhinitis pathomechanizmusa	12
1.2. Az allergiás rhinitis genetikai aspektusai	16
1.2.1. Single- nucleotid polimorfizmus (SNP)	16
1.2.2. Genomikai kérdések allergiás rhinitisben.....	17
1.2.3. Tanulmányok az SNP-k előfordulásáról allergiás rhinitisben.....	18
1.2.4. Kemokineket és receptoraikat kódoló gének polimorfizmusai AR-ben.....	18
1.2.5. Interleukineket és receptoraikat kódoló gének polimorfizmusai AR-ben	19
1.2.6. IL-4, IL-13 és IL-4RA kódoló génjeinek polimorfizmusai	20
1.2.7. Az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) és az angiotenzinogén gének polimorfizmusainak összefüggése az AR-szel	20
1.2.8. Az eosinophil peroxidase (EPO) gén polimorfizmusainak kapcsolata az AR-szel	21
1.2.9. A leukotrién és lipoxigenáz gének polimorfizmusainak kapcsolata AR-szel	21
1.2.10. Egyéb gének polimorfizmusainak összefüggése AR-szel	22
1.3. Az allergiás rhinitis és az apoptózis kapcsolata.....	23
1.3.1. Az apoptózis	23
1.3.2. Tumor necrosis factor alfa (TNF- α)	24
1.3.2.1. A TNF- α felfedezése	24
1.3.2.2. A TNF szupercsalád	25
1.3.2.3. A TNFR1 jelátvittele.	28
1.3.2.4. A TNF hatásai.....	30
1.3.2.4.1. A TNF és a carcinogenezis.....	30
1.3.2.4.2. A TNF mint daganatellenes szer	30
1.3.2.4.3. Az immunrendszer szabályozása.....	31
1.3.2.4.4. Autoimmun kórképek	31
1.3.2.4.5. Inzulinrezisztencia	32
1.3.2.4.6. Szívelégtelenség	32
1.3.2.5. A TNF/TNFR szupercsalád genetikai mutációi	33

1.3.3. Fas, FasL.....	33
1.3.3.1. Jelátvitel.....	36
1.3.3.2. Fiziológiai-pathológiai szerep	38
1.3.3.2.1. FasL- Fas indukálta apoptózis pathológiai hatásai	38
1.3.3.2.2. A FasL- Fas indukálta apoptózis szerepe a lymphocyta homeosztázisban	39
1.4. TLR-4	40
1.4.1. A TLR-4 előfordulása és funkciói	40
1.4.2. A TLR-4 szignáltranszdukció.....	43
1.4.3. A TLR és a szövetek gyulladási válaszüreakciója	45
1.4.4 A TLR és az allergiás betegségek	46
1.5. A PPAR fehérjék	49
1.5.1. A PPAR fehérjék története	49
1.5.2. Genetika.....	49
1.5.3. A PPAR-ok szerkezete	53
1.5.4. A PPAR-ok biológiai hatásai.....	54
1.5.4.1. PPAR- α – a zsírmétabolizmus egyik központi szabályozója	57
1.5.4.2. PPAR- α az érrendszer integritásában és az atherogenezisben	58
1.5.4.3. PPAR- γ kulcsfontosságú regulátor az adipogenezisben és az inzulinszenzitivitásban.....	58
1.5.4.4. PPAR- γ az érrendszerben és a gyulladási folyamatokban	59
1.5.4.5. PPAR- β/δ	60
1.5.4.6. PPAR- β/δ a vasculáris rendszerben	60
1.6.1. A TNF- α promotor -238 (rs361525) és 308 (rs1800629), a TLR-4 299 (rs4986790) és 399 (rs4986791), a PPAR- γ Pro12Ala (rs1801282) és C161T (rs3856806) és a PPAR- α 2468 G/C (rs4253778) pozíciójú polimorfizmusainak vizsgálata	61
2. Célkitűzések	61
3.1. Módszerek	62
3.2. A vizsgált populáció jellemzői	62
3.3. A vizsgálat körülményei	62
3.4. Vizsgált paraméterek	63
3.5. Statisztikai feldolgozás	70

4. Eredmények	71
4.1. Allergiás rhinitisben szenvedő betegek klinikai és laboratóriumi paraméterei pollenszezon alatt és után	71
4.2. Klinikai tünetek, laboratóriumi paraméterek és citokinszintek közötti összefüggések rhinitises betegekben	77
4.3. Allergiás rhinitises betegek citokin- és IgE szintjeinek, valamint klinikai tüneteinek elemzése pollenszezon alatt és után.....	79
4.4. A TNF- α promoter -238 G/A, -308 G/A pozíciójú allélpolimorfizmusainak összefüggése a klinikai tünetekkel, a citokinkoncentrációkkal és az IgE szintjével AR-es betegekben.....	79
4.5. A TLR-4 299 (Asp/Gly) és 399 (Thr/Ile) allélpolimorfizmusok összefüggése a klinikai tünetekkel, a citokinkoncentrációkkal és az IgE szintekkel AR-es betegekben..	86
4.6. A TNF- α promoter és a TLR-4 receptor vizsgált polimorfizmusainak hatása allergiás rhinitises betegek klinikai tüneteire pollenszezon alatt és után	89
4.7. A TNF- α promoter -238 G/A, -308 G/A valamint a TLR-4 299 D/G és 399 T/I polimorfizmusainak együttes hatása a klinikai tünetekre, a citokin – és az IgE szintekre rhinitises betegekben	92
4.8. A PPAR- γ (rs 1801282, rs 3856806) és PPAR- α (rs 4253778) polimorfizmusok előfordulási gyakorisága AR-es betegekben és az átlagpopulációban	92
4.9. A PPAR- γ Pro12Ala polimorfizmusának kapcsolata rhinitises betegek klinikai paramétereivel és a citokin koncentrációkkal pollenszezon alatt és után.....	93
4.10. PPAR- γ exon6 (rs 3856806) C/T polimorfizmus összefüggése AR-es betegek klinikai paramétereivel és citokin szintjeivel pollenszezon alatt és után	96
4.11. PPAR- α intron7 (rs 4253778) G/C polimorfizmust hordozók klinikai paramétereinek és citokin szintjeinek vizsgálata AR-es betegekben pollenszezon alatt és után.	98
4.12. PPAR- γ Pro12Ala, PPAR- γ exon6 C/T és PPAR- α intron7 G/C polimorfizmust hordozó AR-es betegek tüneti score értékeinek elemzése pollenszezonban és szezon után.	100
5. Megbeszélés.	103
6. Következtetések.....	105
6.1. Szezonálisan változó és szezontól független paraméterek	105

6.1.1. TNF- α , TNFR1	105
6.1.2. Fas, FasL.....	107
6.2. TLR vizsgálatok	109
6.3. A PPAR vizsgálatok	112
6.4. Új terápiás lehetőségek.....	113
6.4.1. TNF- α antagonisták	113
6.4.2. TLR-4 agonisták- bakteriális LPS származékok	114
6.4.3. Biológiai terápia	115
7. Összefoglalás	117
8. Summary.....	118
Irodalomjegyzék	119
Saját publikációk jegyzék.....	142
Köszönetnyilvánítás	145

Rövidítések jegyzéke

AB	asthma bronchiale
ACE	angiotenzin konvertáló enzim
ADAM	a disintegrin and metalloprotease
ALPS	autoimmun lymphoproliferatív szindróma
AP-1	aktivátor protein-1
aP2	adipocyte-restricted intracellular lipid binding protein
APC	antigén prezentáló sejt
APO2L	ld. TRAIL
ApoCIII	apolipoprotein CIII
AR	allergiás rhinitis
ARF 6	adipocyte specific transcription factor 6
BAL	bronchoalveolaris lavage
BH3-only	Bcl-2-homology domain 3- only
Bid	Bcl-2 interacting domain death agonist
bp	bázispár
BT	biológiai terápia
CCR	chemokin receptor
CD	cluster of differentiation
CV	variációs koefficiens
DC	dendritic cell
DED	death effector domain
DISC	death inducing signalling complex
ECP	eosinophil cationic protein
EPO	eosinophil peroxidase
ESE	exonic splicing enhancer
FADD	Fas-associated death domain
Fas	FS 7 asszociált sejtfelszíni antigén
FasL	Fas ligand
FDA	Food and Drug Administration
FHF	familial hibernian fever

FOXJ1	forkhead box protein
GLUT4	glukóztranszporter 4
GM-CSF	granulocyte- macrophag colony-stimulating factor
GvH	graft versus host
HDL	high-density lipoprotein
HSP	heat shock protein (hősokkfehérje)
ICAM	intercellular adhesion molecule
IFN α	interferon α
Ig	immunglobulin
I- κ B	NF- κ B inhibitor
IL	interleukin
IL-4RA	interleukin-4 receptor alfa
IL-28RA	interleukin-28 receptor alfa
IRAK	IL-1 receptor associated kinase
ISE	intronic splicing enhancer
JNK	c-Jun N-terminal kinase
KO	knocked out
LBD	ligand binding domain
LFA-3	lymphocyte function associated antigen-3
LPL	lipoprotein-lipáz
LPS	lipopolysaccharide
LT	leukotrién; illetve lymphotoxin ld.szöveg
LTC ₄ S	leukotrién C ₄ - szintetáz
LTR	leukotrién receptor
MAPK	mitogen-activated protein kinase
MBP	major basic protein (fő bázikus fehérje)
mFasL	membránhoz kötött Fas ligand
MHC	major histocompatibility complex
MMP	mátrix-metalloproteáz
MPL-A	monofoszforil- lipid- A
MyD88	myeloid-differenciáló 88. faktor
NF- κ B	nuklear factor- κ B

NK	natural killer (természetes ölüsejt)
NO	nitrogén-monoxid
PAMP	pathogen associated molecular pattern (pathogén asszociált molekuláris mintázat)
PG	prostaglandin
PNIF	peak nasal inspiratory flow
PPRE	PPAR response element
PPAR	peroxisome proliferator activated receptor
pter	promoter
RANKL	receptor activator of nuclear factor- κ B ligand
RANTES	regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted
RIP	receptor interacting protein
RXRA	retinoid X receptor alfa
sFas	szolubilis Fas
sFasL	szolubilis Fas ligand
SCIT	subcutan immunterápia
SIT	specifikus immunterápia
SLIT	sublingualis immunterápia
SNP	single nucleotide polymorphism
sTNF	szolubilis TNF
sTNFR	szolubilis TNF receptor
TCR	T-cell receptor
TGF	transforming growth factor
Th	T-helper sejt
TLR	Toll- like receptor (Toll- szerű receptor)
TNF	tumor necrosis factor
TNFR1	tumor necrosis factor receptor 1
TRADD	TNF receptor-associated death domain
TRAF	TNF receptor associated factor
TRAIL	TNF-related apoptosis-inducing ligand
TRAPS	tumor necrosis factor receptor asszociált periodikus szindróma
TSLP	thymic stromal lymphopoietin

TZD	tiazolidéndionok
VCAM	vascular cell adhesion molecule
VEGF	vascular endothelial growth factor
VLDL	very-low density lipoprotein

Bevezetés (irodalmi háttér)

Az allergiás rhinitis (AR) gyakorisága világszerte rendkívül magas. Egy közelmúltban végzett nyugat-európai felmérés szerint a lakosságnak éghajlati és földrajzi régióktól függően megközelítően 17-29 százaléka, átlagosan 23%-a szenved AR-ben. [1] Reprezentatív mintavétellel történt felmérések alapján Magyarországon is hasonló frekvenciával számolhatunk, az AR hazai előfordulása 15-25%. [2] Mindemellett a betegség incidenciája évről évre mintegy 2-3%-kal növekszik, különösen a gazdaságilag fejlett országokban. A megelőzésben a teljes antigén-elimináció általában nem megvalósítható, valamint a jelenleg alkalmazott gyógyszerekkel nem minden esetben lehet teljes tünetmentességet elérni. Így felmerül az igény újabb, az eddigieknél hatékonyabb terápiás módszerek, gyógyszerek kifejlesztésére. Érthető tehát, hogy e betegségcsoport évtizedek óta intenzív kutatások tárgyát képezi.

Az AR kialakulása többlépcsős folyamat, melyben környezeti tényezők és genetikai faktorok egyaránt részt vesznek. A környezeti tényezők többségét, nevezetesen a szezonális allergéneket, a betegség perenniális formájában pedig a háziporatkákat, állati tollakat és szőröket, stb. már ismertnek tekinthetjük, a multifaktoriális genetikai komponensek azonban napjainkban kerülnek új megvilágításba. Bár több olyan genomiális régiót sikerült már azonosítani, amelyek az allergiás betegségek kialakulásában szerepet játszhatnak, ezek mellett az ún. allergiasuszeptibilitási gének mellett egyéb gén, illetve génexpressziós eltérések feltárása jelentős előrelépést jelentene. Számos elképzelés született már arra vonatkozóan, hogy az allergiás betegségek pathogenezise során a programozott sejthalál (apoptózis) szabályozásában bekövetkező változás vezethet a betegségért felelős sejtpusztuláshoz vagy éppen sejtproliferációhoz, illetve bizonyos gyulladáshoz vezető faktorok és citokinek szintjének a megváltozásához.

Az utóbbi években új területnek számít a Toll- szerű receptorok (TLR) kutatása. A TLR-ek kapcsolatot teremtenek a különböző mikrobiális fertőzések, szöveti sérülések és az azokat követően megjelenő gyulladáshoz vezető kórképek kialakulásához.

között. Munkám során, az allergiás betegségek kialakulásában szakirodalmi adatok alapján feltételezhetően szereplő Toll- szerű receptorcsaládnak egy tagját, a TLR-4-et vizsgáltam. A kutatás fő célkitűzése az volt, hogy választ kapjunk arra, hogy a TLR-4-et kódoló gén polimorfizmusa milyen szerepet játszik az allergiás rhinitis kialakulásában és hogy a polimorfizmus jelenléte miként befolyásolja a betegség lefolyását.

Munkám során a gyulladásos folyamatokban szerepet játszó PPAR (peroxisome proliferator activated receptor) fehérjék (PPAR- γ , PPAR- α) allergiás rhinitisben potenciális szereppel bíró genetikai polimorfizmusait is vizsgáltam. Ezen fehérjék a magreceptorok családjába tartozó transzkripciós faktorok, amelyek bizonyítottan alapvető szerepet játszanak a celluláris differenciációban, szénhidrát-, fehérje- és zsíryanycserében és a tumorgenezisben is. Az intracellularisan elhelyezkedő PPAR fehérjék többek között a TNF (tumor necrosis factor) fehérje által indított transzkripciós mechanizmusokat is aktiválhatják. Korábbi vizsgálataink során allergiás rhinitises betegcsoportban emelkedett szérums TNF- α szintet találtam. Jelen kutatásom során tanulmányoztam a TNF- α átíródásához szükséges TNF- α promoter régió génpolimorfizmusait ugyanezen betegcsoportban.

A vizsgált génpolimorfizmusokat összevettem az allergiás rhinitisben szenvedő betegek klinikai tüneteivel, citokin és IgE szintjeinek alakulásával és a nasalis áramlási sebességekkel allergia szezonban és a szezon után.

1.1. Az allergiás rhinitis pathomechanizmusa

Az allergiás rhinitis (AR) az orr és az orrmelléküregek nyálkahártyájának és submucosájának allergénexpozíciót követő, sejtbeszűréssel járó, IgE közvetítette allergiás gyulladása. Fő tünetei az orrfolyás, tüsszögés, orrviszketés, orrdugulás, melyek szemetünetekkel kombinálódhatnak. A panaszok jelentkezhetnek szezonálisan (intermittáló AR), időszakosan megjelenő allergének, legtöbbször pollenek hatására (szénanátha), vagy perenniális formában (perzisztáló AR), melyet egész éven át ható allergének okoznak, pl. háziporatká, állati tollak és szőrök és egyes penészgombafélék. Az AR atópiás megbetegedés, gyakori a más atópiás kórképekkel való együttes előfordulása, mint az asthma bronchiale (AB), atópiás dermatitis és az allergiás conjunctivitis.

A betegség pathomechanizmusa az orrnyálkahártyában zajló allergiás gyulladáson alapul. Az orrnyálkahártyában kimutatható bizonyos sejteknek és azok mediátorainak a felszaporodása, ez többnyire az eosinophil sejteket, hízósejteket, epithelialis sejteket és a T-lymphocytákat érinti.

Az AR kifejlődésének négy fázisát különböztetjük meg: 1. atópia; 2. szenzitizáció; 3. allergia; 4. krónikus nyálkahártya gyulladás.

Az atópiás személyek B-lymphocytái allergén okozta stimulációra fokozott IgE termeléssel reagálnak, mely a helper T-sejtek (Th) egyensúlyának Th2 irányba történő eltolódásának következménye. A Th1- Th2 egyensúly szabályozásában fontos szerepet játszanak bizonyos bakteriális eredetű oligonukleotidok, transzkripciós faktorok és az ún. regulatorikus T-sejtek (Treg) által termelt interleukin (IL)-10 és transzformáló növekedési faktor (TGF)- β .

A szenzitizáció specifikus allergénexpozíciót követően kezdődik, kialakulását követően ugyanazon allergénnel történő expozíció hatására allergiás tünetek lépnek fel, melyeket elsősorban a hízósejtekből és a basophilekből felszabaduló anyagok okoznak. A nasalis nyálkahártyába penetráló allergéneket főként dendritikus sejtek és részben makrofágok veszik fel és azokat peptidekké hasítják, majd ezek a peptidek kötődnek az antigén prezentáló sejtek (APC) MHC II molekuláihoz és expresszálódnak a sejtek felszínén. A peptideket bemutató APC-k az orrnyálkahártyában és a környező

nyirokcsomókban találkoznak a Th0 lymphocytákkal, a peptid specifikus Th0-sejtek T-sejt receptoraikkal kapcsolódva a peptid-MHC komplexhez stimulálódnak és Th2 sejtekké differenciálódnak. Az allergént specifikus receptoraikkal, a B sejt receptorokkal a B-sejtek is felismerik az APC- sejtek felszínén, és közvetlenül is prezentálhatnak felszínükön peptideket APC-ként működve (ezek az FcεRII vagy CD23+B sejtek). A B-lymphocyták és a CD4+ T-sejtek interakciója a Th2 lymphocytákból interleukin termelését és felszabadulását eredményezi (pl. IL-4, IL-13), melyek specifikus IgE termelő B-lymphocyta klónok kialakulását segítik elő. Az így termelt IgE bekerül a szisztémás keringésbe. Az IgE- termeléshez szükséges IL-4-et és IL-13-at aktivált hízósejtek és a természetes ölösejtek (NK-sejtek) is termelik. A szisztémás keringésbe került IgE- molekula nagyrészt a hízósejteken, basophil sejteken, APC- sejteken jelen levő magas affinitású (FcεRI), másrészt az eosinophileken, alveoláris makrofágokon és B-lymphocytákon levő alacsony affinitású Fcε- receptorokhoz (CD23 vagy FcεRII) kötődnek.

A hízósejtek, melyek a normális nasalis mucosát alkotó sejtek közé tartoznak, AR-ben felszaporodnak az orr nyálkahártyájában, különösen a submucosában. Allergénexpozíciót követően a már előzetesen szenzitizált személynél az allergén a hízósejteken levő IgE molekulához kötődik, oly módon, hogy két IgE molekula között mintegy hidat képez. Ez a kapcsolódás a hízósejt degranulációját idézi elő, ami preformált és újonnan termelődő mediátorok felszabadulását eredményezi. A mediátorok közül az allergiás nasalis tünetek szempontjából a legfontosabb a hisztamin, mely az allergénexpozíciót követően 1- 5 percen belül felszabadul. A hisztamin mellett heparin, számos enzim: triptáz, kináz, karbopeptidáz és lipidmediátor: prosztaglandinok (PG); leukotriének (LT), valamint citokinek: IL-2, 4, 5, 6, 8, 13, granulocytá- makrofág kolóniastimuláló faktor (GM-CSF) és tumor nekrozis faktor (TNF)-α is felszabadulnak. A hízósejtek degranulációja IgE- független módon is létrejöhet IL-3, TNF-α és komplement 3a és 5a hatására.

Egészséges személyek nasalis mucosájában minimális mennyiségű basophil sejt van, AR-es betegek nasalis kenetében viszont jelentős számban megtalálhatók és számuk korrelál a betegség súlyosságával. Az IL-3, GM-CSF és a TNF-α direkt módon képesek a basophil sejt mediátor felszabadulását indukálni.

Az eosinophil sejtek nem tartoznak a nasalis mucosa normális sejtalkotó elemeihez. Aktív rhinitisben azonban mind a mucosában és submucosában, mind az epitheliumban nagy számban kimutathatók és a nasalis kenetben is emelkedett számban vannak jelen. Ugyanúgy képesek IgE- mediált módon degranulálódni, mint a hízósejtek, ugyanakkor aktivációjukat számos citokin, mint pl. IL-3, IL-5, IL-6, GM-CSF és a komplement 3a is indukálni képes. Ezek a citokinek a hízósejtekből, de magukból, az eosinophilekből is felszabadulnak, így ezek degranulációja újabb eosinophil sejtek degranulációs kaszkádját indítja el. Az eosinophilek aktivációjával eosinophil kationos protein (ECP), eosinophil peroxidase (EPO) és fő bázikus protein (MBP, major basic protein), valamint leukotriének, és TNF- α is felszabadul. Az ECP, EPO és MBP toxikus anyagok, károsítják a nasalis nyálkahártya szöveteit és fokozzák a gyulladást. A termelt LTC₄ jelentős szerepet játszik a rhinitises orrdugulás és rhinorrhoea kialakulásában.

Az orrnyálkahártya allergiás gyulladásának kialakulásában az említett sejteken kívül fontos szerepe van a nasalis epitheliális sejteknek és a nyálkahártya- kapillárisok endothel sejtjeinek is. Az epitheliális sejtek permeabilitása fokozódik, számos citokint és gyulladási faktort, pl. TNF- α - t termelnek. Az endothelsejtek elsősorban adhéziós molekulák expresszálása révén, úm. vaszkuláris adhéziós molekula (VCAM) -1, intracelluláris adhéziós molekula (ICAM) -1, a gyulladási sejtek akkumulációjában játszanak szerepet.

Szenzitizált egyénekben az allergénnel történt provokációt követően néhány percen belül, elsősorban a hízósejtek granulumaiból felszabaduló hisztamin hatására azonnali (immediate) reakció jön létre az AR jellegzetes tüneteivel. A tünetek közül a viszketés, tüsszögés, vizes orrfolyás dominál, de már bizonyos fokú nasalis congestio is jelen lehet. A bejutó allergének az APC- sejtek által közvetítetten aktiválják a T-lymphocytákat, melyek kemoattraktáns citokineket, valamint IgE termelődést és adhéziós molekula-expressziót elősegítő IL-4- et termelnek. Az adhéziós molekulák és a kemoattraktáns citokinek hatására bekövetkezik a gyulladási sejtek extravasációja és az orrnyálkahártyában való felszaporodása. A gyulladási sejtek a belőlük felszabaduló mediátorok, citokinek útján egymást is képesek aktiválni, így amplifikálják a gyulladást. Ez a folyamat a fél- egy óra alatt lezajló közvetlen reakció után ismét tünetek kialakulásához vezethet, melyek többnyire a 4- 5. órában kezdődnek és a

maximális hatás 6- 12 óra múlva jelentkezik. Ezt a tünetegyüttest késői reakciónak nevezzük, melyet az ornyálkahártya jelentős megduzzadása, a nasalis hiperreaktivitás és a szagérzés csökkenése jellemez. [2]

Az AR előfordulása családi halmazódást mutat, olyan egyéneken alakul ki, akik tartós IgE választ adnak bizonyos allergénekkal való találkozáskor. Ez a tulajdonság genetikailag meghatározott. Felmerül a kérdés, hogy milyen gének lehetnek felelősek a betegség kialakításáért, és hogy e gének megismerésével miként lehetne befolyásolni a betegség lefolyását. Munkám során, egy, a betegség kialakításában valószínűleg szerepet játszó, az apoptózis szabályozásában résztvevő gén vizsgálatával foglalkoztam.

1.2. Az allergiás rhinitis genetikai aspektusai

Az allergiás rhinitis kialakulásában a genetikai hajlam és környezeti expozíció (főként az allergének) komplex kölcsönhatása játszik szerepet. Az örökletes komponens szerepét ikreken végzett különböző tanulmányok támasztják alá. A szigorúan genetikai álláspontot képviselők úgy gondolják, hogy már kis genetikai defektusok is eredményezhetnek betegségeket. Az elmúlt években egyre inkább előtérbe kerültek az allergiás náthában érintett gének szerepe, valamint számos genetikai kutatás készült kromoszómális összefüggésekről (legtöbb a 2, 3, 4, és 9-es kromoszómákról). Single-nucleotid-polimorfizmusok vizsgálatáról készült tanulmányok az allergiás rhinitis pathomechanizmusáért felelős gének által kódolt molekulákat elemezték, ilyen molekulák többek között a kemokinek, leukotriének, interleukinek és receptoraik, különböző enzimek, pl. eosinophil peroxidase.

1.2.1. Single- nucleotid polimorfizmus (SNP)

Az egyponyos nukleotid-polimorfizmus, elterjedt angol nevén **Single Nucleotide Polymorphism**, (rövidítve **SNP**), egy DNS szekvencia-variáció, mely akkor jön létre, ha egy nukleotid a genomban megváltozik. Csak akkor tekinthetjük a variációt SNP-nek, ha a populáció legalább 1%-ában megjelenik. Hatalmas mennyiségű genetikai variáció (többek között SNP) létezik, mely hozzájárulhat a betegségek kialakulásához, hiszen az emberi DNS $4,2 \times 10^9$ bázispárt tartalmaz, és a genomban 100-300 bázisonként fordul elő SNP. Becslések szerint legalább 4 millió SNP járul hozzá az egyes jellemzők (magasság, súly, szemszín, bőrtípus) kialakulásához. A fehérjéket kódoló régióban található SNP-k okozhatnak aminosav cseréket (non-szinoním mutációk) és idő előtti stop kodonok kialakulását (a fehérjék csonkolódását). Ezek a mutációk a fehérjék szerkezetének és funkciójának a megváltozásával járhatnak. Más SNP-k nem vezetnek aminosav cseréhez, ezek a szinoním, vagy csendes mutációk. A fehérjéket nem kódoló régióban előforduló SNP-k a következő eltéréseket okozhatják. A gének promoter területén előforduló SNP-k a génátíródásban eredményezhetnek különbségeket. Az SNP-k előfordulása befolyásolhatja továbbá a splicingot (lehet ESE, exonic splicing enhancer, vagy ISE, intronic splicing enhancer). Vizsgálataink között szerepel ilyen SNP (a PPAR- α vizsgált polimorfizmusa). Más, nem kódoló régióban

előforduló SNP-k érinthetik a nem kódoló RNS-ek szekvenciáját, befolyásolva ezzel a gének expressziójának RNS szabályozását.

Ahhoz, hogy biztosan kijelenthessük, hogy az SNP-k bizonyos betegségek okozói, néhány kritériumnak teljesülnie kell [3]: a genetikai termék indukáljon funkcionális vagy expresszionális változást, igazoljuk statisztikai tanulmányokkal ezt az összefüggést, és ha lehetséges, biológiai kísérlet (pl. állatkísérleti modell) is támassza alá a feltevésünket.

Napjainkig jelentős kutatási erőforrás összpontosult az asthma, az allergiás rhinitis és az atópiás betegségek genetikai hátterének felderítésére. Főként az ázsiai populáció körében végeztek kiterjedt vizsgálatokat. Saját vizsgálataink is az AR egyes genetikai aspektusaival foglalkoznak.

1.2.2. Genomikai kérdések allergiás rhinitisben

AR esetében számos genomikai kutatás történt. Haagerup és mtsai [4] 2001-ben 446 mikroszatellit marker segítségével 33 olyan dán családon végeztek teljes genom vizsgálatot, ahol legalább két testvér igazolt AR-ben szenvedett. A szerzők azonosítottak egy fő régiót (4q24-q27), ill. 8 szekunder régiót. Yokouchi és mtsai 48 AR-ben szenvedő családon végeztek genomikai vizsgálatot [5], az 1p36.2, 4q13.3 és 9q34.3 kromoszómák között igazoltak összefüggést, az 5q33.1 kromoszómával pedig gyenge kapcsolatot állapítottak meg. Az utóbbi régió kivételével az összes többi régióban összefüggést tudunk megállapítani az asthma és az allergia között. A szerzők kétlépcsős vizsgálatra 11 elkülönített régiót választottak ki (3p, 3q, 4p, 4q, 5q, 6p, 9p, 12q, 12qter, 18q, és Xp). [6] 97 polimorf markert vizsgáltak 424 egyénnél (100 dán családból), és 5 fenotípus alapján értékelték: allergiás asthma, atópiás dermatitis, allergiás rhinitis, valamint teljes és specifikus IgE alapján. Arra a következtetésre jutottak, hogy bizonyos gének a 3q, 4q és Xp régiókban szerepet játszanak az allergiás betegségek létrejöttében, hiszen mind az 5 fenotípusban kimutathatóak voltak. AR-szel a legintenzívebb összefüggést a 4q32.2 gén mutatta. 2005-ben Dizier és mtsai [7] 295 francia családon végzett teljes genom vizsgálatot (ahol legalább 1 asthmás volt a családban), összefüggést keresve az asthma és AR között. Arra a következtetésre jutott, hogy a 1p31 gén is meghatározó mind az asthma, mind az AR szempontjából, míg a 2q32, 3p24-p14, 9p22 és 9q22-q34 kromoszómák nagyobb valószínűséggel AR-ben

játszanak inkább szerepet. 2006-ban Bu és mtsai [8] 250 svéd családnál végzett teljes genom vizsgálatot atópiás rhinitis háttérének tanulmányozása céljából. A tanulmány megerősítette a már korábban kimutatott összefüggést a 3q13, 6p23-p24 és 9q34.3 kromoszómális régiók és az allergiás rhinoconjunctivitis között. Végül Brasch-Andersen és mtsai [9] 28 mikroszatellit markerrel vizsgálták a 3q kromoszómát 236 allergiás dán családnál. A tanulmány szerint a 3q13.31 régió hozható összefüggésbe allergiás rhinoconjunctivitissel.

1.2.3. Tanulmányok az SNP-k előfordulásáról allergiás rhinitisben

A legtöbb tanulmány AR-ben szenvedők SNP vizsgálatáról főként az elmúlt 2-3 évben készült. Az ázsiai lakosság körében, főként Japánban és Koreában számos ilyen vizsgálatot végeztek.

1.2.4. Kemokineket és receptoraikat kódoló gének polimorfizmusai AR-ben

A kemokinek és receptoraik alapvető fontosságúak a különböző allergiás gócok miatt kialakult gyulladásos sejtek által közvetített kemotaxisban, ezért jelentősek az allergiás folyamatokban, különösen AR-ben. Nakamura és mtsai [10] elemezték a 3p21.3 régió elhelyezkedő kromoszóma által kódolt kemokin receptorokat (CCR1, CCR2, CCR3, CCR5 és CCXCR1) japánok egy olyan csoportján, akik cédrus pollinosisban szenvednek, illetve kontroll populáción. Ezzel a betegséggel 8 polimorfizmust hoztak kapcsolatba. Egy másik vizsgálatot is végeztek 60 gyermekkel és szüleikkel (151 beteg és 157 kontroll). Szignifikáns összefüggést mutattak ki a japánokban a CCR2 64Ile és a CCR3 51C SNP-i és a cédrus pollinosis előfordulása között. A 64Ile/780C/51C haplotípus nagyobb gyakorisággal fordult elő pollinosisban szenvedőkben.

Zhang és mtsai [11] 11 gén mutációját értékelték AR-ben a 4q kromoszómán 17 mikroszatellita marker segítségével. 48 AR-es japán családnál analizálták 44 SNP előfordulását és a gének szöveti expresszióit. Megállapították, hogy a SDAD1, CXCL9, CXCL10 és CXCL11 gének a 4q21 locuson consecutivan helyezkednek el, és a génekben előforduló SNP-k asszociációt mutattak az AR előfordulásával.

Kim és mtsai [12] eset-kontroll vizsgálatokat végeztek RANTES (szabályozott aktivitású, normál T-sejt kifejeződés és kiválasztódás) gén két polimorfizmusával kapcsolatban (-403A és -28G) 151 AR-es koreai betegben és 278 egészséges, nem

atópiás egyénnél. Megállapították, hogy mindkét RANTES polimorfizmus gyakorisága nagyobb volt az AR-es csoportban a kontroll csoporthoz képest.

Az eotaxin géncsalád részt vesz az eosinophil, basophil és Th2 lymphocyták aktivációjában. Egy koreai tanulmányban Chae és mtsai [13] megállapították, hogy az eotaxin 3 gén +2497T>G SNP kapcsolatban állhat az allergiás rhinitis kialakulásával.

1.2.5. Interleukineket és receptoraikat kódoló gének polimorfizmusai AR-ben

A legtöbb allergiás rhinitisről készült genetikai vizsgálat magában foglalta a citokineket és receptoraikat kódoló gének vizsgálatát, ugyanis számos citokin részt vesz az AR pathogenezisében. Figyelembe véve a citokinek fontosságát AR-ben, az IL-4 és receptorát a későbbiekben külön említtem.

Sebelova és mtsai [14] felnőtt cseh lakosság körében 539 AR-ben szenvedő, és 312 egészséges egyént vizsgált. Az IL-18 gén -607 C/A, -137 G/C és a -133 C/G polimorfizmusai nem függték össze AR-szel, a gén -607 polimorfizmusa viszont igen. Koreai felnőtt lakosság körében végzett tanulmányban Chae és mtsai [15] az IL-28RA gén 7 exonját és az azokat követő intronokat tanulmányozták a promoter régióval együtt, és azonosítottak 18 SNP-t és további két variánst. 7 kiválasztott genotípus előfordulását hasonlították össze AR-es és referens csoportban. Kimutatták, hogy az IL-28RA 32349 G>A polimorfizmusa, illetve néhány haplotípus kombinációja társul AR-szel. 160 AR-es koreai és 166 egészséges kontroll gyermekben Lee és mtsai [16] az IL-18 promoter régió -607 pozíciójú gyakori polimorfizmusát figyelték meg AR-ben a kontroll csoporthoz képest. Az IL-2 -330 T/G polimorfizmus esetén a homozigóta G allél hordozásakor nagyobb az esély az AR kialakulására.

Leírtak védő hatású polimorfizmusokat is az AR-el kapcsolatban. Nieters és mtsai [17] 13 gén 15 polimorfizmusát vizsgálták 322 AR-es és 322 kontroll személynél. Az IL-6 gén -174 G/C heterozigóta polimorfizmusát hordozóknál AR-ben a légúti allergének iránti túlérzékenység csökkenését figyelték meg. Nem találtak hajlamosító SNP-eket az IL-12B és az IL-13 génpolimorfizmus esetén japán felnőtt és gyermek AR-es betegekben. [18]

1.2.6. IL-4, IL-13 és IL-4RA kódoló génjeinek polimorfizmusai

Az atópiás betegségek és az asthma pathogenezisében az IL-4 és IL-4R kapcsolódása alapvető fontosságú.

Az IL-4 gén a -33C>T polimorfizmusának előfordulása összefügg az asthmával és az atópiával. [19] Az IL-4R alfa lánc a Th2 mediált válaszban szereplő IL-4-el és IL-13-al kapcsolódik. Az IL-4R gén a 16p kromoszómán található. Ez a régió kapcsolható össze az asthmás és allergiás kórképek kialakulásával. A gén kódoló régiójában különböző polimorfizmusokat találtak. Ezek közül az 576Q>R jelenléte a B lymphocyták IL-4 stimulációra adott CD23 termelésének fokozásával jár. A két fent említett polimorfizmus együttes elemzése során kiderült, hogy a T allél (-33C>T IL-4) és az A allél (576Q>R IL-4RA) polimorfizmusainak együttes előfordulása szerepet játszik az asthma, különösen a perzisztáló asthma kialakulásában. [20]

Kim és mtsai [21] az IL-4R alfa láncának Gln551Arg polimorfizmusa, illetve az IL-13 gén G2044A polimorfizmusa és az AR kialakulása közötti kapcsolatot vetette fel koreai beteganyagban. A szerzők nem dokumentáltak különbséget IL-4RA allélgyakoriságban és genotípusban beteg és kontroll csoportok között. Az IL13 gén 4-es exonjának 2044A allélje gyakrabban fordult elő AR-ben. Nakamura és mtsai [22] az IL-4RA gén Ile50Val és Glu375Ala polimorfizmusait vizsgálták, és kimutatták az összefüggést a fenti polimorfizmusok és a japánok között előforduló cédrus pollinosis között. Cheng és mtsai [23] nem találtak összefüggést az IL-13 Arg110Gln polimorfizmusa és cédrus pollinosis okozta AR között. Egy nemrég készült gyermekeken végzett kohorsz vizsgálat az Egyesült Királyságban 10 éves utánkövetéssel igazolta az IL-13 és a GATA3 gén polimorfizmusának összefüggését az AR kialakulásának kockázatával. [24]

1.2.7. Az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) és az angiotenzinogén gének polimorfizmusainak összefüggése az AR-szel

Az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) úgy fejt ki gyulladáscsökkentő hatást, hogy inaktiválja a különböző proinflammatorikus faktorokat, pl. a bradykinint, vagy a substance P-t. Mindkét faktor részt vesz az atópiás neurogén gyulladás pathogenezisében.

Kim és mtsai [25] elemezték a genotípusok, az inzerciók és deléciók gyakoriságát az ACE génben 137 AR-es betegben, és az angiotenzinogén gén M235T polimorfizmusát 186 AR-es betegben és 219 referens személyben. Nem találtak szignifikáns különbséget ACE gén DD és angiotenzinogén gén TT genotípusainak gyakorisága között beteg és kontroll csoportban. Ku és mtsai [26] hasonlóképp nem találtak különbséget a mutáns allél hordozásának gyakoriságában 75 koreai AR-es és 66 kontroll gyermek esetén.

Lu és mtsai [27] 106 AR-es nem asthmás, 105 AR-es és asthmás valamint 102 egészséges referens gyermek allélmegoszlását összehasonlítva jelentős DD genotípus gyakoriság növekedést találtak az AR-es és asthmás gyermekek csoportjában, a csak AR-es gyermekekhez képest. Megállapították, hogy a gén kapcsolatban lehet AR-ben az asthma kialakulásával.

1.2.8. Az eosinophil peroxidase (EPO) gén polimorfizmusainak kapcsolata az AR-szel

AR-ben az eosinophilek fontos szerepet játszanak. Nakamura és mtsai [22] megállapították, hogy japán felnőttekben az EPO Pro358Leu polimorfizmus szerepet játszik a cédrus pollinosis kialakulásában. A szerzők egy másik tanulmánya szerint összefüggés figyelhető meg a cédrus pollinosis előfordulása és az Arg202Arg (A660G) silent mutáció hordozása között. [28]

1.2.9. A leukotrién és lipoxigenáz gének polimorfizmusainak kapcsolata AR-szel

A leukotriének az asthma és az AR fontos mediátorai. Leukotrién aktivációt gátló gyógyszereket használunk mind az asthma, mind az AR kezelésére. A leukotrién szintézis folyamatában a legfontosabb enzim az LTC₄ szintetáz (LTC₄S). Az LTC₄ gén A-444C polimorfizmusának hordozása kapcsolatot mutat az asthma kialakulásával – bár az eredmények ellentmondásosak, AR-szel kapcsolatban csak kevés tanulmány látott napvilágot. [29] Eskandari és mtsai randomizált, prospektív tanulmányt végeztek 85 AR-es beteg és 95 kontroll személy bevonásával. Megállapították, hogy az LTC₄S gén C alléljének hordozása kapcsolatban van az AR kialakulásával. [30]

A ciszteinil-leukotriének a cysLTR1 és cysLTR2 receptorokon keresztül fejtik ki hatásukat. A cysLTR1 aktivációja az LTC₄ kapcsolódásának hatására következik be,

amely simaizomkontrakciót, oedemaképződést és eosinophil sejtek tüdőszövetbe történő migrációját váltja ki. A cysLTR1 gén 927T>C polimorfizmusa szignifikánsan gyakrabban fordul elő atópiás dermatitises fiúk körében. [31] Ezzel a polimorfizmussal más tanulmányok is foglalkoztak. Zhang és mtsai a génnek négy polimorfizmusát vizsgálták, és nem találtak kapcsolatot sem a rhinitis, sem az asthma előfordulásával. [32]

1.2.10. Egyéb gének polimorfizmusainak összefüggése AR-szel

Számos tanulmány foglalkozott különböző gének polimorfizmusával AR-ben, pl. a CD14 gén egyes polimorfizmusait hozták kapcsolatba az AR kialakulásával. [33] Az ADAM33 (a disintegrin and metalloprotease) enzim génjének polimorfizmusa japán betegekben mutatott kapcsolatot a cédrus pollinosis előfordulásával [34], a FOXJ1 (forkhead box protein, transzkripció faktor) gén bizonyos polimorfizmusának hordozása pedig az AR kialakulásával. [35] Hasonló összefüggést találtak a FcγRIIa gén polimorfizmusával is. [36] Nem találtak viszont összefüggést a hisztamin metabolizmusában részt vevő enzimek polimorfizmusával. [37]

Összefoglalva, az AR előfordulása és a különféle kromoszómákon lokalizált gének polimorfizmusainak hordozása között mutatkozik kapcsolat, példák erre a 2, 3, 4, 9-es kromoszómák egyes génjei, így a kemokinek és receptoraik, az interleukinek és receptoraik, egyes enzimek, pl. az eosinophil peroxidáz, valamint gyulladáso mediátorok, pl. leukotriének, stb. [38]

1.3. Az allergiás rhinitis és az apoptózis kapcsolata

1.3.1. Az apoptózis

A programozott sejthalál, apoptózis (görög eredetű szó, jelentése: falevelek hullása) a fiziológias sejtelhalás leggyakoribb formája, mely során a szervezet megszabadul az életműködések szempontjából feleslegben levő, valamint a sejtműködést súlyosan károsító, genetikai hibát szenvedett és ezt kijavítani nem képes sejtektől. Az apoptózis esetében – szemben a nekrozissal – a sejt halála aktív folyamat eredménye, melyre genetikailag determinált morfológiai és biokémiai változások sorozata jellemző.

Az apoptózis jelenségét először J. F. Kerr és mtsai írták le 1972-ben. [39] 2002-ben Sydney Brenner, H. Robert Horvitz és John E. Sulston Élettani és Orvostudományi Nobel-díjat kaptak a szervfejlődés genetikai szabályozása és a programozott sejthalál területén végzett kutatásaikban elért eredményeikért.

Az apoptózis mechanizmusa egy gének által kódolt halálprogram, melyben az egyik legfontosabb jelátviteli út a halálligand- halálreceptor út, mely kizárólag az emlőssejtekre jellemző. A halálligandok olyan citokinek, amelyek specifikus receptorokkal való kapcsolódás után az arra érzékeny sejtek apoptózisát indítják el. A halálreceptorok a tumor necrosis factor receptorok (TNF receptorok) családjának tagjai, melyek I. típusú egyszeres transzmembrán glikoproteinek (az N-terminális rész extracelluláris elhelyezkedésű). Intracitoplazmatikus részükön haláldomén található. Jellemző rájuk, hogy aktiválódásukhoz össze kell kapcsolódniuk homotrimer vagy heterotrimer formákká. A halálreceptorok nemcsak membránhoz kötött, hanem szolubilis formában is előfordulhatnak, így azok a sejten kívül is képesek kötődni ligandjaikhoz, ezzel csökkentve a halálreceptorok aktiválásának esélyét. A halálligandok II. típusú egyszeres transzmembrán glikoproteinek (a C-terminális rész extracelluláris elhelyezkedésű), melyeket membránkötött mátrix-metalloproteázok (MMP) hasítanak le a sejtfelszínről. A membránhoz kötött és a szolubilis ligandok biológiai viselkedése eltérő lehet.

A halálreceptorok és ligandjaik kapcsolódása után a komplexhez ún. adaptor molekulákon keresztül iniciátor kaspázok kötődnek és beindítják a kaspáz-kaszkádot,

az apoptózist végrehajtó enzimeket. A folyamat többféle szignáltranszdukciós úton keresztül mehet végbe, bonyolult szabályozási folyamatok által kontrolláltan. A receptorok ligandkötése azonban eredményezheti a nukleáris faktor- κ B (NF- κ B) aktivációs kaszkád aktiválódását is, mely fokozza a sejt apoptotikus hatásokkal szembeni rezisztenciáját, így a sejt túlélése lesz a folyamat következménye. [40]

Mindezek alapján az ismert sejthalál-gének és -fehérjék befolyásolása egészen új gyógyítási lehetőségeket teremt egyes betegcsoportokban, így az apoptózis hatékony eszköz az orvostudomány kezében.

Az utóbbi idők tudományos közleményei szerint az AR kialakulásának pathomechanizmusában szerepe lehet az apoptózis szabályozásában bekövetkező változásnak. Ezen publikációk szerint a két legismertebb halálreceptor, a tumor necrosis factor receptor-1 (TNFR1) és az FS 7 asszociált sejtfelszíni antigén (Fas), valamint ligandjaik, a tumor necrosis factor- α (TNF- α) és a Fas ligand (FasL), melyek a folyamatban központi szerepet játszhatnak.

A citokineket szekvenciájuk, szerkezeti és funkcionális sajátágaik alapján citokin családokba sorolják. Egyik ilyen citokin csoport a TNF család.

1.3.2. Tumor necrosis factor alfa (TNF- α)

1.3.2.1. A TNF- α felfedezése

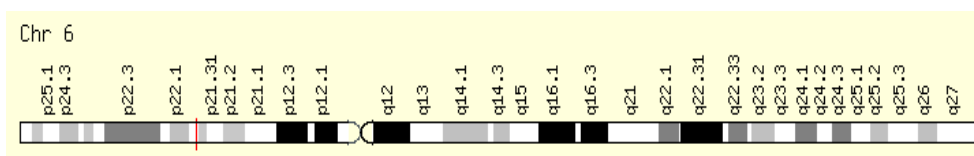
Több mint egy évszázada P. Bruns, egy német orvos a tumorok regressziójáról számolt be bakteriális fertőzéseket követően. [41] Ennek hatására W. Coley, egy amerikai onkológus bakteriális kivonatot (ún. Coley-toxint) használt rákbetegek gyógyítására részben sikerrel. [42] G. Granger és mtsai 1968-ban írták le a lymphotoxint (LT), egy lymphocyták által termelt proteint, amely a tumorsejtek halálát idézi elő. [43] 1975-ben L. J. Old egy makrofágok által termelt citotoxikus faktort talált, amelyet tumor necrosis factornak (TNF) nevezett el. [44] Egészen 1984-ig nem merült fel a TNF és LT tényleges kémiai azonossága és rokonsági kapcsolata, amíg nem határozták meg az aminosavsorrendjüket és nem klónozták őket. A TNF aminosav-szekvenciájának

meghatározása vezetett arra a felismerésre, hogy a két fehérje szerkezetileg homológ, ezután a TNF-et TNF- α -nak, az LT-t TNF- β -nak nevezték el. [45,46,47,48]

1.3.2.2. A TNF szupercsalád

Jelenleg 19 különböző ligand ismeretes, amely a TNF szupercsaládba tartozik. Mivel számos munkacsoport egyidőben, egymástól függetlenül írta le ugyanazokat a citokineket, ezért a TNF család bizonyos tagjainak többféle elnevezése is ismert. Ilyen például a TNF-hez hasonló apoptózis indukáló ligand (TRAIL), amelyet APO2L-ként is ismernek. [49,50] A 19 ligand által elindított sejtválasz 29 receptoron keresztül valósul meg, amely receptorok a TNF-receptor (TNFR) szupercsalád tagjai közé tartoznak és jellemző szerkezeti elemük, az extracelluláris ciszteinben gazdag domén. Összességében a TNF receptorokat számos sejtípus expresszálja, például a TNFR1-et valamennyi sejtípus, míg a TNFR2-expressziójáért főleg az immun- és endothelialis sejtek felelősek. Azt feltételezik, hogy a TNFR1 inkább a szolubilis ligandok számára szolgál kötőhelyként, a TNFR2 pedig a membránhoz kötött ligandok szignáltranszdukciójában vesz részt. [51] A TNFR1 death domént (DD= halál domén) tartalmaz, melyen keresztül apoptózist indukálhat. A TNFR2 nem tartalmaz ilyen halál domént, de elindíthat apoptózist a TNFR1 segítségével. [52]

A TNF- α alternatív elnevezései: TNFSF2, TNFA, DIF, Tumor necrosis factor ligand superfamily member, TNF-a, TNF superfamily member 2, cachectin, APC1 protein.



A TNF- α gén a 6. kromoszóma p21.33 régióban, a fő histocompatibilitási komplex III. területén helyezkedik el, 4 exonból áll.

Génlokalisáció GC06P031543.

kezdet: **31,543,003** bp a pter-től
 vég: **31,546,113** bp a pter-től
 méret: **3,111** bázis

A TNF- α promoter régióban a következő transzkripció faktorok kötőhelyei találhatóak: NF-kappaB1, AP-1, c-Fos, c-Jun, GR-alpha, GR-beta, NF-kappaB, IRF-A, p53, PPAR-gamma1.

A TNF- α szekretált változata 233 aminosavból áll, 25644 Da molekulatömegű, homotrimert képez, a membránhoz kötött változat subcelluláris lokalizációja a sejtmembrán, amelyben II. típusú, a sejtmembránt egyszer áthidaló proteinként (C-terminális vég extracelluláris) van jelen.

A TNF- α szekretált fehérje aminosav sorrendje a következő:

MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGA
 TTLFCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQAVRSSSRTPSDKPVAVHVVANPQAE
 GQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGGQCPSTHVLL
 THTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEPIYLGGVFQLEKGDR
 LSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL

A TNF- α 5 orthológjának, az egér, kutya, csimpánz, tehén és patkány fehérjék szekvenciája ismert.

A TNF- α szerepét több száz betegség pathomechanizmusában vizsgálták. A legjelentősebb pathogenetikai szerepe a rheumatoid arthritisben, a szeptikus shockban, különböző daganatok apoptózisának indukciójában, a gyulladási válasz kialakulásában, a TNF asszociált periodikus szindrómában, az endotoxin kiváltotta shockban, az arthritis psoriaticában, haemorrhagiás necrosisban mutatkozik (-log p val nagyobb 50), de jelentős a szerepe Crohn betegségben, periodontitisben, myeloma multiplexben, congestiv szívelégtelenségben, coronaria atherosclerosisban is.

A TNF- α gén genetikus különbségei összefüggést mutattak arthritis psoriaticával és hepatitis B vírus infekcióra való fogékonysággal. [53] A TNF- α néhány kiemelt kórállapotban betöltött szerepét a későbbiekben részletezem.

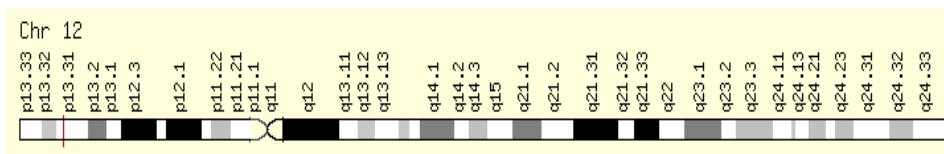
Terápiás célokra az infliximab (egér TNF- α elleni monoclonalis immunglobulin), adalimumab (humán TNF- α elleni monoclonalis immunglobulin), az etanercept (TNF-receptor-1 IgG fúziós protein), a golimumab (human TNF- α elleni monoclonalis antitest) és az onercept (TNF-receptor-1 elleni monoclonalis antitest) használatosak (részletesebben az új terápiás lehetőségek fejezetben). A TNF-ről publikált közlemények száma az értekezés készítésekor 33939 (PUBMED adatbázis).

Vizsgálatainkban a TNF receptorok közül a TNFR1 szolubilis változatát tanulmányoztuk, ezért csak e receptorral kapcsolatos ismereteket tekintem át.

A TNFR1 alternatív elnevezései: TNFRSF1A, TNFAR, CD120a, TNFR60, TNF-R55.

A TNFR1 gén a 12 kromoszóma p13.2 régiójában található.

kezdet: **6,437,923** bp a pter-től
 vég: **6,451,261** bp a pter-től
 méret: **13,339** bázis



A TNFR1 gén promoterében a következő transzkripciós faktor kötőhelyek találhatóak: AP-1, CREB, deltaCREB, STAT1beta, CUTL1, STAT1alpha, STAT1, STAT5A, IRF-1, Sp1.

A TNFR1 455 aminosavból áll, molekulatömege 50495 Da, I. típusú, a membránt egyszer áthidaló membránfehérje (az N-terminális vég extracellulárisan helyezkedik el) formájában van jelen. AQ szolubilis változat proteolitikus folyamat révén keletkezik (ADAM 17). 14 exonja és 12 alternatív splice variánsa ismert.

A fehérje aminosav- szekvenciája:

1 mglstvpdll lplvlllelv giypsgvigl vphlgdrekr dsvecpqqkyi hpqnnsicct
 61 kchkgytlyn dcpggqtdt crecesgsft asenhlrhcl scskcrkemg qveissctvd
 121 rdtvcgrkn qyrhywsenl fqcfncslcl ngtvhlscqe kqntvctcha gfflreecv
 181 scsnckksle ctklclpqie nvkgtedsgt tvllplviff glcllllfi glmyryqrwk
 241 sklysvcgk stpekegele gtttklapn psfsptpgft ptlgsfvps stftsstyt
 301 pgdcpnfaap rrevappyqg adpilatala sdipnplqk wedsahkpqs ldtddpatly
 361 avvenvpllr wkefvrrlgl sdheidrlcl qngrcleaq ysmlatwrrr tprreatlel
 421 lgrvlrdmdl lgcledieea lcgpaalppa psllr

Hét orthológ fehérje- szekvencia került publikációra, az egér, patkány, kutya, csimpánz, tehén, csirke és a zebra hal TNFR1 aminosav sorrendjét írták le ezidáig.

A TNFR1 gén 149 single nucleotid polimorfizmusa szerepel a Genecards adatbázisában. A receptor változatok több száz betegséggel való kapcsolatát taglalták. A legerősebb pathogenetikai kapcsolatok a daganatok apoptózisának kiváltásával, a tumor necrosis factor receptor- asszociált periodikus szindrómával (TRAPS), a hereditár periodikus láz szindrómával (FHF, rekurráló láz, hasi fájdalom, myalgia, lokális bőrléziók), familiáris mediterrán lázzal, hyperimmunglobulinaemia d-vel, kollagén indukálta arthritissel társult (-log p-vel nagyobb). [53] A TNFR1-ről megjelent közlemények száma a disszertáció írásakor 1711 (PUBMED adatbázis).

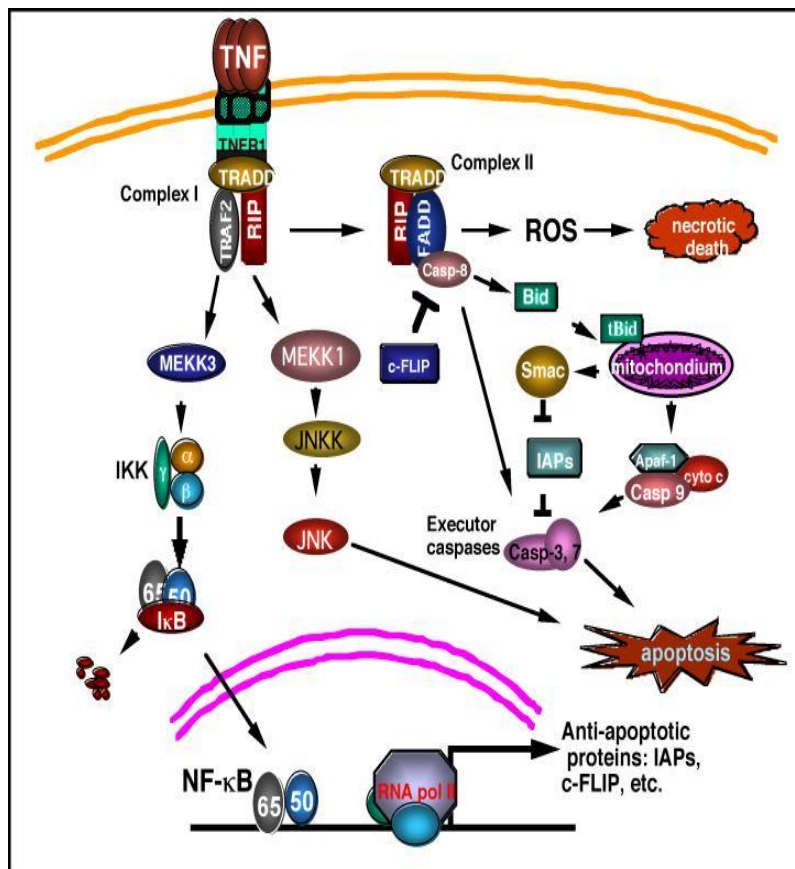
1.3.2.3. A TNFR1 jelátvittele

A TNF kötődésekor a TNFR1 szerkezete megváltozik, képes kötni a TRADD (TNFR-associated death domain) fehérjét, így lehetővé válik több adaptor molekula kötődése, különböző jelátviteli utak megvalósulása. Az adaptor fehérjék közé tartozik a receptor interacting protein (RIP), TNFR-associated factor-2 (TRAF-2), valamint a Fas-associated death domain (FADD). Ezek további jelátviteli folyamatokat indítanak el a nuclear factor- κ B (NF- κ B), a mitogen-activated protein kinase-ok (MAPK) aktiválásával illetve sejthalál indukálásával. [54]

Az NF- κ B aktiválódásakor a sejtmagba helyeződik, ahol transzkripciós faktorokat aktivál, alapvetően antiapoptotikus hatású. [55]

A MAPK-ok közül a legfontosabb a JNK, melynek aktivációja inkább proapoptotikus hatású. [56]

Mint halálreceptornak, a TNFR1-nek alapvető szerepe van a sejthalál indukciójában, mely többféleképpen is megvalósulhat. Az úgynevezett extrinsic apoptotikus út során TNFR1-TRADD-RIP-FADD alkotta komplex I komplex II-vé alakul, köti a kaszpáz-8-at, mely autoproteolitikusan hasad, és aktiválódik, a sejtben apoptózist indukál. Az intrinsic jelátviteli út elindításában a kaszpáz-8-nak szintén kulcsszerepe van. Képes hasítani a Bcl-2 interacting domain (Bid-et) tBid-dé, mely a mitochondriális membrán károsításával indítja el az apoptózist. [57] Mindemellett a TNF képes nekrotikus sejthalált is kiváltani aktív oxigéngyökök segítségével. [58] (1. ábra)



1. ábra A TNF által kiváltott jelátviteli utak [59]

1.3.2.4. A TNF hatásai

1.3.2.4.1. A TNF és a carcinogenezis

Számos tanulmány számol be megnövekedett szérumban TNF szintről daganatos betegekben, valamint számos daganatban fokozott TNF expresszió mutatható ki. Emellett a TNF szintje korrelál a tumor progressziójával, kemoterápia során pedig szintje csökkenhet bizonyos tumorok, például prosztatarák esetén, ami összefügg a terápia hatékonyságával. [60,61,62] A TNF daganatkeltő hatását számos egérmodell kísérletben igazolták [59], ezenkívül segíti a tumorok érújdonképző, inváziós és metasztatizáló képességét is. A TNF képes serkenteni az angiogenetikus faktorok (pl.: IL-8 és a vascular endothelial growth factor-VEGF) expresszióját glioma sejtekben. [63] Ovarium ráksejtek pedig TNF-et szekretálnak, ezáltal számos citokint, kemokint és angiogenetikus faktort aktiválnak, amelyek segítik a peritoneum colonizációját, illetve az érépződést a daganatsejtekben. [64]

Mindezek ellenére néhány kísérlet azt igazolja, hogy a TNF antionkogenetikus hatású is lehet. Például TNF^{-/-} egereket vizsgálva azt tapasztalták a kutatók, hogy sokkal hajlamosabbak lettek a 3-methylchloranthrene által kiváltott bőrsarcoma kialakulására, mint a vad típusú egerek. [65] TNFR1 illetve TNFR2 génhányos egereket vizsgálva azt találták, hogy a gazdaszervezet immunsejtjeinek TNFR2 expressziója daganatellenes hatású. A TNFR2 mediálta jelátviteli út nitrogén-monoxid (NO) felszabadulásához, és nagymennyiségű macrophag aktiválásához vezet, így gátolja a tumor angiogenezisét. [66]

1.3.2.4.2. A TNF mint daganatellenes szer

Bár kezdetben úgy gondolták, hogy hatékony daganatellenes szer, később inkább az a nézet terjedt el, hogy a TNF használhatósága szisztémás toxicitása miatt behatárolt. [67] Ha ez valamilyen módon kiküszöbölhető lenne, a TNF terápia használhatósága javulhatna. Például korábbi tanulmányok kimutatták, hogy a mátrix- metalloproteázok gátlásával ki lehet védeni a TNF- indukálta letális hepatitiszt és apoptózist, ami biztonságos tumorterápiát tesz lehetővé. [68]

A TNF sikeresen alkalmazható nagyméretű, metasztatizáló végtagi lágyrész-sarcomák és melanomák kezelésében megfelelő, izolált végtagkeringés mellett, ami lehetővé teszi az amputáció elkerülését. [69] Továbbá a TNF sikeresen alkalmazható adjuváns szerként bizonyos kemoterápiás szerek mellett (pl.: doxorubicin), így segítve azok daganatellenes hatását. [70]

1.3.2.4.3. Az immunrendszer szabályozása

Az immunrendszer szabályozásában nemcsak a sejtek proliferációjának és differenciációjának van szerepe, hanem a természetes sejthalálnak is. Az apoptózisban részt vevő jelátvivő molekulák funkcióvesztéses mutációi a sejtek hyperproliferációját eredményezhetik. Ezzel ellentétben a halál-kaszád amplifikációja szöveti károsodáshoz vezethet. A TNF szupercsalád ligandjai irányítják, vezénylik az immunválaszok több szintjét. A TNF, $LT\alpha$, $LT\beta$ és RANKL alapvető szignálokat jelentenek a másodlagos nyirokszervek morfogenezisében. A proapoptotikus tagok- például a TNF, a CD95L és a TRAIL hozzájárulnak a citotoxikus sejtek funkciójához, a vírussal fertőzött sejtek felismerésében és elpusztításában. [71] A TNF- α a szervezetben számos helyen hat. Segíti az erek és a simaizom sejtek proliferációját, az endothel sejtekhez való kitapadást. A synoviumban segíti az adhéziós molekulák proliferációját és aktivációját, ezáltal lehetővé teszi az immunsejtek beáramlását. A központi idegrendszerre hatva alvászavart és lázat okoz. Szerepe van a csontátépülés folyamatában, a fibroblastokra hatva pedig a hegképződés és a sebgyógyulás szabályozásában is részt vesz. [72]

1.3.2.4.4. Autoimmun kórképek

Az etanercept (Enbrel), infliximab (Remicade), adalimumab (Humira) és a certolizumab pegol (Cimzia) olyan TNF- α gátló gyógyszerek, melyeket elfogadott az amerikai Food and Drug Administration (FDA). [72]

Számos autoimmun kórkép terápiájában sikeresen használhatók a fenti gyógyszerek. Így például rheumatoid arthritis kezelésében, ahol infliximab és methotrexat kombinált alkalmazásával jelentősen lassult az ízületi károsodás üteme. [73] Az infliximab egyszeri vénás alkalmazásával már látványos javulást értek el Crohn betegeken [74] és

hosszútávú alkalmazása is egyre széleskörűbb ebben a betegségben. Valamennyi TNF gátló gyógyszer hatékonynak bizonyult psoriasis kezelésében is. [75]

Az anti-TNF terápiák azonban egyértelműen megnövelték bizonyos betegségek, például a tuberculosis kockázatát. A TNF ugyanis fontos szerepet játszik a macrophagok granulomaképzésében, ezáltal gátolja a Mycobacterium tuberculosis okozta fertőzés szétterjedését. TNF-gén hiányos egerekben kontrollálhatatlan és letális mycobacterium fertőzés alakul ki. [76,77] Egyéb intracelluláris kórokozók (pl.: Listeria monocytogenes, Histoplasma capsulatum) okozta fertőzések száma is emelkedett az etanercept, illetve infliximab kezelésben részesült betegek között. [78,79]

1.3.2.4.5. Inzulinrezisztencia

A TNF-nek fontos szerepe van a 2-es típusú diabetes mellitus pathogenezisében. Kimutatták, hogy a TNF interferál az inzulin egyik jelátviteli mechanizmusával, olyan módon, hogy gátolja az inzulinreceptor tirozin-kináz aktivitását és az inzulinreceptor szubsztrát 1 szerin foszforilációját. [80] A TNF szerepét vizsgálták TNF illetve TNFR gén hiányos egerekben. A TNF hiánya a táplálkozás eredetű elhízásban és az ob/ob genotípusú egerekben egyaránt az inzulin szenzitivitás határozott javulását eredményezi. Ez jelzi, hogy elhízás kapcsán a TNF az inzulinrezisztencia egy fontos mediátora, mivel az inzulin mediálta folyamatokat különböző pontokon befolyásolja. [81]

1.3.2.4.6. Szívelégtelenség

A TNF magasabb szintjét találták a vérben és a myocardiumban krónikus szívelégtelenségben szenvedő betegekben a kontrollcsoporthoz képest. A TNF összefüggésbe hozható sokféle olyan pathofiziológiai folyamattal, amely a krónikus szívelégtelenség előrehaladásában fontos szerepet játszik. [82,83]

1.3.2.5. A TNF/TNFR szupercsalád genetikai mutációi

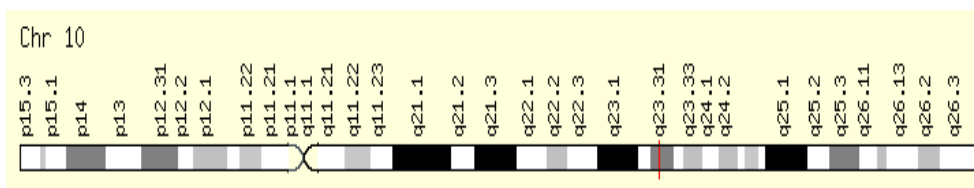
A TNF szupercsalád receptorainak és ligandjainak is ismertek mutációi a humán genomban. A TNFR1 misszenz mutációi vezetnek az autoszomális dominánsan öröklődő periodikus láz szindróma kialakulásához, amely megmagyarázhatatlan lázas epizódokkal és súlyos lokális gyulladással jár. [84] A mutáció megzavarja a konzervatív extracelluláris diszulfidkötéseket, ez a szolubilis TNFR1 szintjének csökkenéséhez vezet a betegek plazmájában. A Cys52Phe mutációt hordozó egyének leukocytái fokozott mértékben expresszálnak membránhoz kötött TNFR1-et és stimulálás után alacsonyabb mértékű receptorhasadást mutatnak. Az autoinflammatorikus fenotípus a membránhoz kötött TNFR1 elégtelen down-regulációjával és a potenciális antagonist szolubilis receptor csökkent leválásával jár. A TNF receptor mutációk fontos osztályát képezik a TNFR1-asszociált periodikus szindrómák (TRAPS). [85]

1.3.3. Fas, FasL

A Fas (APO-1 vagy CD95) receptor egy I. típusú transzmembrán protein a tumor necrosis factor-receptor (TNF-R) szupercsalád tagja. [86] Ligandja, a Fas ligand (FasL), a TNF citokin család tagja. [87]

A Fas alternatív elnevezései: TNFRSF6, CD95, APO-1, APO-1 cell surface antigen, FAS1, FASLG receptor, APT1, Fas AMA, OTTHUMP00000217569, FASTM, ALPS1A, FAIM, LFG, NMP35. Javasolt elnevezés: Tumor necrosis factor receptor superfamily member 6 precursor.

Génje a 10-es kromoszómán helyezkedik el (10q23.31).



kezdet: **90,749,226** bp a pter-től
vég: **90,775,542** bp a pter-től
mérete: **26,317** bázis

A Fas gén promoterében a következő transzkripció faktor kötőhelyeket találták: C/EBPbeta, FOXO1a, GR-beta, GR-alpha, p53, Sp1, NF-E2, p45, NF-E2, Bach2, IRF-1.

A Fas gén területén 292 SNP-t találtak.

A Fas génnek 7 orthológja ismert, a kutya, a csimpánz, az egér, a patkány, a tehén, a csirke és a zebrahal proteinek.

A Fas fehérje 335 aminosavból áll, molekulatömege 37732 Da. A Fas mRNS 12 splicing variánsát találták meg.

A Fas fehérje aminosav- szekvenciája a következő:

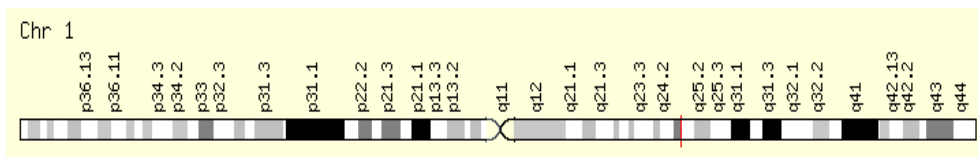
MLGIWTLPL VLTSVARLSS KSVNAQVTDI NSKGLELRKT VTTVETQNLE
GLHHDGQFCH KPCPPGERKA RDCTVNGDEP DCVPCQEGKE YTDKAHFSSK
CRRRCRLCDEG HGLEVEINCT RTQNTKCRCK PNFFCNSTVC EHC DPCTKCE
HGIIKECTLT SNTKCKEEGS RSNLGLWLL LLPIPLIVWV KRKEVQKTCR
KHRKENQGS EPTLNPETV AINLSDVDLS KYITTIAGVM TLSQVKG FVR
KNGVNEAKID EIKNDNVQDT AEQKVQLLRN WHQLHGKKEA YDTLIKDLKK
LCTLAEKI QTIILKDITS DSENSNFRNE IQSLV

A Fas fehérjével kapcsolatba lépő eddig ismert proteinek száma 42. A Fas kapcsolatát szintén sok száz betegség pathomechanizmusában vizsgálták, közel 5000 publikáció jelent meg ezekről. A legjelentősebb kapcsolat a tumorok apoptózisával és a daganatos betegségekkel, az autoimmunitással és az autoimmun betegségekkel, az autoimmun lymphoproliferatív szindrómával (ALPS), a Hashimoto thyreoiditissel, szilikózissal, keloidokkal, sialadenitissel mutatkozott (-log p-val nagyobb 13). [88] A Fas-ról

publikált cikkek száma az értekezés írásakor 4466 (PUBMED adatbázis). Néhány kiemelt kórfolyamatot részletesebben elemzek.

A Fas ligand alternatív elnevezései: CD178, CD178 antigén, TNF ligand superfamily member 6, TNFL6, TNFSF6, CD95-L, APTL, FasL, Fas antigén ligand, FASL, APT1LG, APO-1 antigén ligand. A FasL javasolt neve: Tumor necrosis factor ligand superfamily member 6.

A FasL génje az 1 kromoszómán helyezkedik el (1q24.3).



kezdet: **172,628,154** bp a pter-től
 vége: **172,636,014** bp a pter-től
 mérete: **7,861** bázis

A Fas ligand promoterében a következő transzkripciós faktor helyek kerültek felismerésre: C/EBPbeta, FOXO1a, GR-beta, GR-alpha, p53, Sp1, NF-E2, p45, NF-E2, Bach2, IRF-1.

A FasL gén területén a Genecards 17 SNP-t tart nyilván.

A Fas génnel azonosan a FasL génnek is 7 orthológja ismert.

A FasL mérete 281 aminosav, 31485 Da molekulatömegű, homotrimer.

A fehérje szekvenciája a következő:

```

MQQPFNYYPY QIYWVDSSAS SPWAPPGTVL PCPTSVPRRP GQRRPPPPPP
PPPLPPPPPPPLPLPLPP LKKRGNHSTG LCLLVMFFMV LVALVGLGLG
MFQLFHLQKE LAELRESTSQMHTASSLEKQ IGHPSPPPEK KELRKVAHLT
  
```

GKSNSRSMPL EWEDTYGIVL LSGVKYKKGGLVINETGLYF VYSKVYFRGQ
 SCNNLPLSHK VYMRNSKYPQ DLVMMEGKMM
 SYCTTGQMWARSSYLGAVFN LTSADHLYVN VSELSLVNFE ESQTFFGLYK L

95 fehérje ismert, amelyekkel a FasL-Fas kötődés létrejötte után a komplex a működése során képes kapcsolatba lépni. Sok száz közlemény foglalkozik a FasL különböző biológiai folyamatokban és kórállapotokban betöltött szerepével. A leglényegesebb kapcsolat az apoptózis szabályozással, a dagantos betegségekkel, az immunológiai folyamatokkal és autoimmun kórképekkel, infekciókkal, graft versus host reakciókkal mutatkozott (-log p-val nagyobb 9). [88] A Fas ligandról publikált cikkek száma az értekezés írásakor 2279 (PUBMED adatbázis). Néhány kórfolyamatot részletesebben említék.

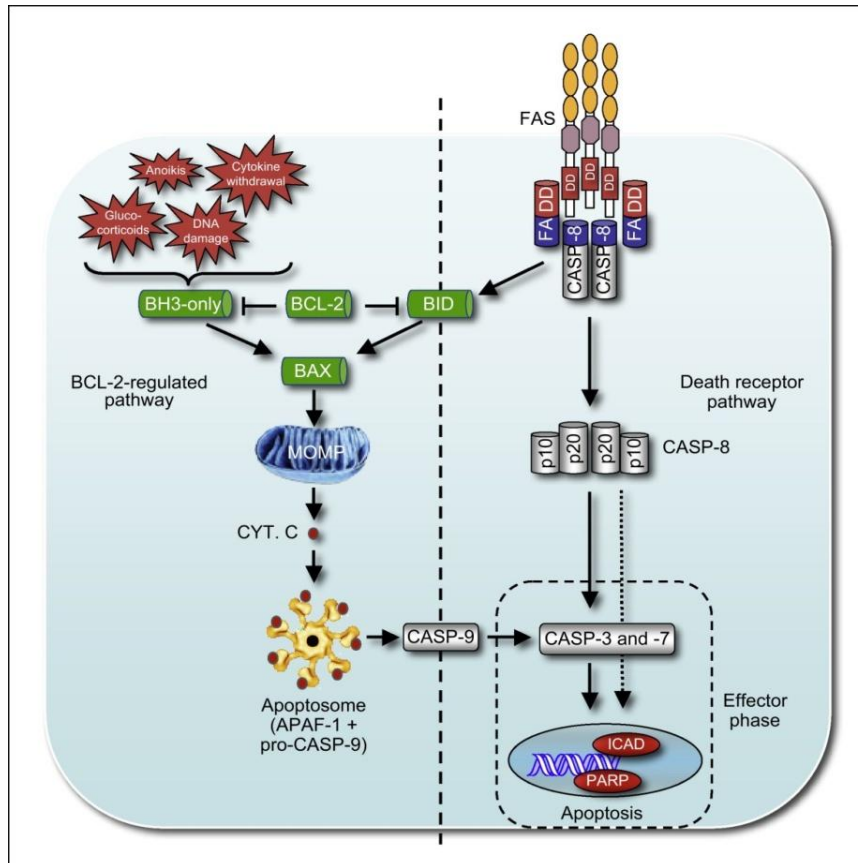
A FasL-Fas jelátviteli út kritikus szerepet játszik az immunrendszer szabályozásában. Lymphadenopathiában és SLE-szerű megbetegedésben szenvedő egereket vizsgálva, a kutatók felfedezték, hogy a klinikai képet a Fas-t [89] vagy FasL-ot [90] kódoló gén hibás homozigóta formája okozza. Észrevették továbbá, hogy az ALPS-ben (autoimmun limfo-proliferatív szindróma) szenvedő emberek a Fas gén hibáját heterozigóta formában hordozzák. [91,92] Ezenkívül az a megfigyelés, miszerint az APLS-ben szenvedő betegekben, illetve a hibás Fas gént hordozó egerekben a lymphomák előfordulása megsokszorozódik [93], azt mutatja, hogy a Fas-FasL jelátvitel a tumorszupresszióban is fontos szerepet játszik.

1.3.3.1. Jelátvitel

A FasL és receptora összekapcsolódik, és létrehozza a sejthalálhoz vezető jelátviteli komplexet (Death Inducing Signalling Complex= DISC). [94] A DISC-ben az adaptor/aktivátor molekula, a FADD (Fas-associated death domain) összekapcsolódik a Fas death doménjével saját death doménjének a segítségével. [95] A FADD N-terminális végén helyezkedik el a DED (death effector domain), amelynek segítségével a kaszpáz-8 kötődik a DISC-hez. [96,97] A kaszpáz-8 a FADD-hoz kötődve konformáció változáson megy keresztül, ezáltal aktiválódik, majd autoproteolitikusan

hasad, leválik a DISC-ről, és elindítja az apoptózis folyamatát. [98] A legtöbb sejtben a kaszpáz-8 katalizálja a proapoptotikus BH3-only családba tartozó Bid hasadását tBid-dé, ennek csonka formájává, mely így a citoszolból a külső mitochondriális membránra jut, és kifejti proapoptotikus hatását. [99,100] A BH3-only fehérjék a Bcl-2 család egyik nagy proapoptotikus csoportját képezik. Feladatuk, hogy elindítsák a programozott sejthalál illetve stressz-indukálta apoptózist. [101] A Bak, Bax és Bok molekulák a Bcl-2 család másik proapoptotikus csoportjába tartoznak, a mitochondriális membrán permeabilitását fokozzák, és elindítják az apoptózishoz vezető kaszpáz kaszkádot. Ez az ún. intrinsic vagy mitochondriális apoptózis út. [102] A Bcl-2 családba tartozó antiapoptotikus molekulák a sejt túlélésében játszanak szerepet sejttípustól függően. [103] (2. ábra)

A fent leírt kaszpáz-8 mediálta Bid aktiváció, és apoptózis csak bizonyos sejtekben érvényesül, például májsejtekben- mely az ún. 2-es típusú sejtekhez tartozik. [104] Azonban – ellentétben a Fas- illetve FasL-hiányos egerekkel- a Bid-gén deficiens egerekben nem alakul ki lymphadenopathia, vagy autoimmunitás. [105] Azaz a Bid mediálta apoptotikus út az ún. 1-es típusú sejtekben (pl.: lymphocyta) feltehetően kevésbé fontos.



2. ábra A Fas- FasL szignáltranszdukció [106]

1.3.3.2. Fiziológiai-pathológiai szerep

1.3.3.2.1. FasL-Fas indukálta apoptózis pathológiai hatásai

Mind a CD8⁺ citotoxikus T-sejtek, mind pedig az aktivált CD4⁺ T-sejtek egy része termel FasL-ot, illetve ennek membránhoz kötött formáját (mFasL), mely lehasadva szolubilis formában (sFasL) is képes kötni a Fas-t. [107,108]

Összehasonlítva a normál T-sejtekkel azokat a T sejteket, melyek nem termelnek FasL-ot, illetve perforint, azt észlelték, hogy nagyrészt ez a két fehérje felelős a citotoxikus T-sejtek és az NK-sejtek (natural killer) sejtölő hatásáért. [109] Élettani körülmények között a Fas-FasL szerepe az, hogy a vírusfertőzött, sérült, vagy szükségtelen sejteket elpusztítsa. Megemelkedett FasL szint viszont olyan sejtekben is apoptózist okoz,

melyeket nem kellene elpusztítani. Ennek példjaként az akut graft versus host (GvH) reakció egerekben kivédhető FasL és TNF- α ellenes szerek használatával. [110] Fas-deficiens egerekből kinyert T-lymphocytákat egészséges egerekbe ültetve fatális GvH reakciót tapasztaltak a kutatók, ami annak köszönhető, hogy a kóros T-sejtekben az abnormálisan magas mFasL szint a gazdaszervezet Fas+ célsejtjeit elpusztítja. [111] További kutatások eredménye szerint a Fas-FasL indukálta β -sejt apoptózis a pancreasban fontos tényezője az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulásának. [112] Noha a FasL jórészt csak az aktivált T-lymphocytákban, és NK-sejtekben termelődik, több kutatási eredmény szerint egyéb sejtekben is expresszálódhat. Így az immunrendszer elől elzárt szervekben, például a herében, pajzsmirigyben, illetve a szemben. Ezekben, feltételezések szerint, a FasL szerepe az infiltráló lymphocyták elpusztítása, ezáltal az ún. „immun-privilegium”- a szervek intaktságának- biztosítása. [113] Továbbá tudományos vizsgálatok eredményei szerint a FasL expresszió megnő bizonyos tumorsejtekben, ezáltal a daganatot infiltráló lymphocytákat el tudja pusztítani, de ezt az ún. „tumor-visszavág” teóriát további vizsgálatokban megkérdőjelezték. [114, 115]

1.3.3.2.2. A FasL-Fas indukálta apoptózis szerepe a lymphocyta homeosztázisban

A Fas illetve FasL hiányos egerekben olyan progresszív lymphadenopathia fejlődik ki, melyben dominálnak a szokatlan antigenitású T-sejtek. Ezek a lymphocyták valószínűleg a többszörösen aktivált konvencionális T-lymphocytákból alakulnak ki. Emellett a CD4+ és CD8+ sejtek szintje is a normális többszörösére emelkedik. Ez utalhat arra, hogy a FasL-Fas rendszernek alapvető szerepe van a nemkívánatos lymphoid sejtek elpusztításában, ezáltal a lymphocyta homeosztázis fenntartásában. [116,117]

Az apoptózisnak fontos szerepe van a primer nyirokszervekben az autoreaktív lymphocyták eltávolításában. Ebben a folyamatban azonban nem annyira lényeges a FasL-Fas rendszer, mint a Bcl-2 által indított apoptózis. [118]

A programozott sejthalálnak alapvető szerepe van az immunrendszer „kibekapcsolásában”. Az akut immunválaszt követően a végrehajtó sejtekre nincs tovább szükség, potenciális veszélyt jelenthetnek a gazdaszervezetre, ezért apoptózis útján

elpusztulnak. [119] Kutatások szerint azonban úgy tűnik, hogy ebben a folyamatban a FasL-Fas jelátviteli út kevésbé lényeges, inkább a Bcl-2 szabályozta sejthalál érvényesül. [120,121]

Az akut immunválasszal szemben a krónikusan fennálló fertőzéseknel a T-sejtek ismételt aktiválódnak TCR-on (T-cell antigen receptor) keresztül. Ez a FasL termelés fokozódásához, és Fas-indukálta apoptózishoz vezet. [116,117] Újabb kutatási eredmények szerint azonban ebben a folyamatban nemcsak a FasL-Fas rendszer, hanem a BH3-only Bcl-2 családtag Bim is fontos szerepet játszik. [122,123]

Összességében a kutatások eredménye szerint a Fas indukálta apoptotikus út nem játszik lényeges szerepet a lymphocyták fejlődése során megjelenő kóros, autoreaktív lymphocyták eltávolításában. Ugyanakkor kritikus szerepet tölt be az immunválaszt követően az antigén-aktiválta lymphocyták eltávolításában.

1.4. A TLR-4

1.4.1. A TLR-4 előfordulása és funkciói

A TLR-4- et kódoló gén a 9-es kromoszóma rövid karján, a 32-33-as régióban található. Az általa kódolt fehérje a Toll- szerű receptorok (TLR, Toll- like receptor) családjába tartozik, melyek alapvető szerepet játszanak a mikrobiális patogének felismerésében és a veleszületett immunitás aktiválásában. Képesek azonban a szervezet saját patogén folyamatai során kifejeződő makromolekulák, így egyes hősokkproteinek (HSP, heat shock protein), extracelluláris mátrix degradációs struktúrák felismerésére is. Bár a TLR-ek számos transzkripciós variánsát azonosították már, az emlős TLR családnak jelenleg 11 tagja ismert, legtöbbjük pontos funkciója mindeddig ismeretlen.

A TLR-család alapító tagját, a Toll fehérjét, először 1988-ban mutatták ki Drosophilákban. Az 1995-ben orvosi Nobel-díjjal kitüntetett német biológusnő, Christiane Nüsslein-Volhard és mtsai figyelték meg, hogy azok a muslicák, amelyekből hiányzott a Toll fehérje, torz külsővel rendelkeztek. Testük deformálódott, a fejhez és a potrohhoz tartozó testrészeik felcserélődtek. A Toll gént ennek megfelelően a

légyembriók dorsoventralis tengelyének képződését szabályozó génként írták le. Később kiderült, hogy a Toll receptorok aktiválódása emellett a gombák elleni immunitásában is fontos szerepet játszik Drosophilákban. [124] Az első humán TLR-t 1997-ben azonosították. [125] A TLR gének ún. konzervatív gének, felépítésük és funkciójuk nagyfokú hasonlóságot mutat a Drosophilától az emberekig. A humán TLR-ek olyan pathogén asszociált molekuláris mintákat (PAMP, pathogen-associated molecular patterns) ismernek fel, melyek a fertőző ágensek felszínén expresszálódnak, ezáltal mediálják a hatékony immunitás kifejlődéséhez szükséges citokintermelést. A különböző TLR-ek különböző mintázatokkal rendelkeznek. A receptorok leginkább a placentában és a leukocyták myelomonocytá subpopulációiban expresszálódnak. Az expresszió a legtöbb Gram-negatív baktérium felszínén megtalálható lipopoliszacharid (LPS, lipopolysaccharide) által indukált szignáltranszdukció útján valósul meg.

A toll-like receptor 4 alternatív elnevezései: CD284, CD284 antigén, ARMD10, hToll, TOLL, homolog of Drosophila toll. A TLR-4 javasolt neve: toll like receptor 4 precursor.

A TLR-4 génje a 9q33.1 területen található.

kezdet: **120,466,460** bp a pter-től

vég: **120,479,768** bpa pter-től

méret: **13,309** bázis

A TLR-4 promoter területén a következő transzkripciós faktor kötőhelyek vannak jelen: AP-1, HSF1 (long), NF-kappaB1, Egr-1, NF-kappaB, IRF-1, PPAR-gamma1, PPAR-gamma2, c-Rel, FOXC1.

A TLR-4 gén területén 201 SNP-t írtak le. A TLR-4 mRNS 4 alternatívan hasadt variánsát figyelték meg. A gén 6 orthológja ismert (kutya, csimpánz, egér, patkány, tehén és zebra).

A fehérje mérete: 95680 Da. Egyszeres, I. típusú membrán fehérje, a Genecardban 23 interakciós fehérje partnerét tartják nyilván.

A TLR-4 fehérje aminosav- sorrendje a következő:

1 mmsasrlagt lipamaflsc vrpeswepcv evvpnityqc melnfykipd nlpfstknld
61 lsfnprrhlg sysffsfpel qvldsrcei qtiedgayqs lshlstlilt gnpiqslalg
121 afsglsslqk lvavetnlas lenfpighk tlkelnvahn liqsfklpey fsnltnlehl
181 dlssnkiqsi yctdlrvlhq mpllnlsldl slnmpnfiqp gafkeirlhk ltlrnnfdsl
241 nvmktciqgl aglevhrvl gefrnegnle kfdksalegl cntieefrl ayldyylddi
301 idlfncltnv sfsflsvsvti ervkdfsynf gwqhlelvnc kfgqfptkl kslkrltfts
361 nkggnafsev dlpslefldl srnglsfkgc csqsdgfts lkyldlsfng vitmssnflg
421 leqlehdldfq hsnlqmqmsef svflslrnllyldishthtr vafngifngl sslevlkmag
481 nsfqenfld iftelrnlft ldlscqleq lsptafnsls slqvlmshn nffsldtftp
541 kclnslqvld yslnhimtsk kqelqhfps laflnltqnd factcehqsf lqwikdqrql
601 lvevermecca tpsdkqgmpv lslnitqmn ktiigsvsls vlvsvvavl vykfyfhml
661 lagcikygrg eniydafviy ssqdedwvrm elvknleegv ppfqlclhyr dfipgvaiaa
721 niihegfhks rkvivvvsqh fiqsrwcife yeiaqtqwql ssragiifiv lqkvektllr
781 qqvelyrrls rntyleweds vlgrhifwrr lrkalldgks wnpegtvgtg cnwqeatsi

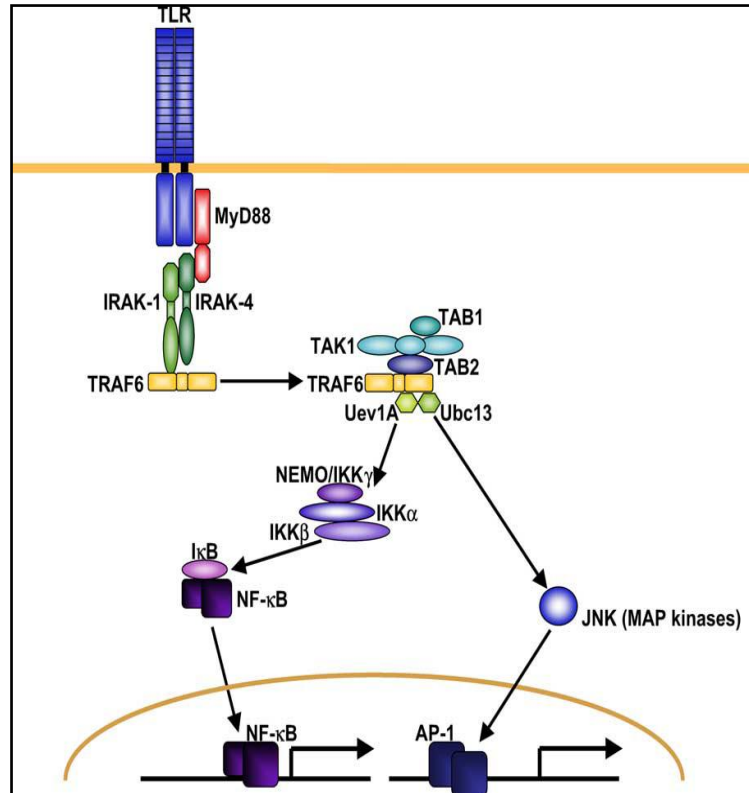
A TLR géneknek, közöttük a TLR-4 génnek is léteznek módosult változatai. Smirnova és mtsai 2001- ben a TLR-4 tizenkét fajta aminosav variánsát írták le [126], később Raby és mtsai további 29 polimorfizmust azonosítottak. [127]

A gén mutációi az LPS megjelenésére adott válaszkészség különbözőségeiben nyilvánulhatnak meg. Rágcsálókkal végzett kísérletek kimutatták, hogy a TLR-4-et kódoló gént érintő mutációt hordozó egyedek LPS-re adott válaszreakciója hyporeaktív. [128, 129]

1.4.2. A TLR-4 szignáltranszdukció

Mostanra már számos endogén és exogén TLR ligandot azonosítottak. A ligandfelismerés a TLR extracelluláris részén elhelyezkedő, leucinban gazdag mintázatokkal történik, néhány esetben azonban a jelátvitelhez más TLR-ek vagy egyéb molekulák kapcsolódása is szükséges. A legtöbb TLR, köztük a TLR-4 is, a sejtfelszínen expresszálódik, bár léteznek intracellulárisan kifejeződő altípusok is, ezek főleg a vírus és nukleinsav felismerésben vesznek részt. A TLR-4 fontos szerepet játszik a Gram- negatív baktériumok LPS-ének felismerésekor bekövetkező hatékony immunválasz kifejlődésében, emellett azonban virális fehérjekomponenseket is képes detektálni. Endogén ligandok is aktiválhatják a TLR-eket, ezek közé tartozik például a gazdasejtől származó mRNS, az antimikrobiális hatású defensin molekula és a reaktív oxigénszármazékok. Ráadásul sérült vagy haldokló sejtek termékei is agonistaként viselkedhetnek, így egyes hősokkproteinek, a fibrinogén vagy a szöveti mátrix egyéb degradációs termékei. [130]

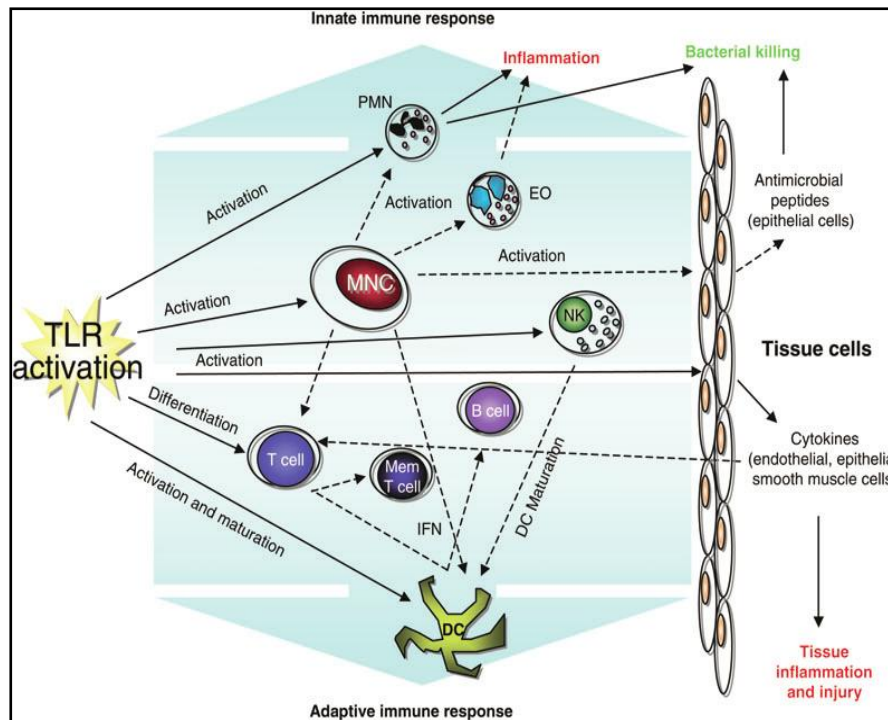
A TLR-ek, köztük a TLR-4 jelátvitele során, a receptor dimerizációjának hatására, többféle adapter molekula, többek között a MyD88, IRAK és a TRAF is aktiválódik, mely intracelluláris protein kinázok kaszkádszerű aktiválódásához, végül a nukleáris faktor (NF)- κ B transzkripciós faktor aktiválódásához vezet, bár emellett más jelátviteli utak is léteznek. A NF- κ B a sejtmagba jutva szabályozza a géntszkripciót (köztük adhéziós molekulák, több citokin, így a TNF- α transzkripcióját). [131] (3. ábra)



3. ábra A TLR-ek jelátvittele [131]

A TLR-ek az intra- és extracelluláris környezet veszélyszignáljainak folyamatos érzékelésével és a sejtek állandó informálásával az immunfolyamatok elindítói és a géntranszkripció befolyásolásával az immunválasz elősegítői.

A különböző jelátviteli utak mindegyike számtalan proinflammatorikus citokin és kemotaktikus faktor transzkripcióját befolyásolja, ezáltal okozza az immunrendszer különböző sejtjeinek aktiválódását, érését, degranulációját, mely végül szöveti gyulladáshoz és kórokozó-eliminációhoz vezet. [130] (4. ábra)



4. ábra A TLR jelátvitel által aktivált immunfolyamatok [130]

MNC: mononukleáris sejt, PMN: polimorfonukleáris sejt, EO: eosinophil sejt; NK: természetes ölösejt; DC: dendritikus sejt; Mem T cell: memória T-sejt; IFN: interferon

A TLR-4 szerepét különböző biológiai folyamatokban és kórállapotokban tanulmányozták és az értekezés írásának időpontjában a PUBMED adatbázisában 2590 publikációt tartanak nyilván a témakörben. A legfontosabb kapcsolatok a következő folyamatokkal mutatkoztak: veleszületett immunrendszer működése, fertőzések, pathogén ágensek felismerése, infekciók elleni védekező folyamatok, immunológiai reakciókban való részvétel, endotoxin shock, gyulladásoos kórképek, autoimmun betegségek, szepszis, daganatos kórállapotok (-log p-val nagyobb 10, Genecards adatbázis). A fontosabb folyamatokat részletesebben elemzem a dolgozatban.

1.4.3. A TLR és a szövetek gyulladásoos válaszreakciója

Számos szövetben kimutatták már a TLR-ek jelenlétét, mely hozzájárulhat az adott szövet infekció elleni védelméhez és a hatékony gyulladásoos válasz kialakulásához. Legfontosabbak ezek közül a bőr, a légző- és az urogenitális-, valamint a

gastrointestinális traktus egyes részei. A szervezetbe bejutó kórokozót többek között az endothel- és simaizom sejtek felszínén expresszáldó TLR-ek detektálják és indítják el a megfelelő gyulladáso- és immunválaszt.

Irodalmi adatok támasztják alá, hogy a TLR-eknek szerepe lehet bizonyos gyulladáso betegségek kialakulásában. Összefüggésbe hozták a TLR-eket többek között a Crohn-betegséggel és a colitis ulcerosával [132], a tüdő megbetegedései közül a COPD-vel [133], közvetett szerepét feltételezik a szív- és érrendszeri megbetegedésekben [134], valamint a diabetes mellitusban [135] és annak szövödményeinek kialakulásában. Autoimmun folyamatok pathogenezisében is leírták már a TLR-ek lehetséges szerepét. [136]

1.4.4. A TLR és az allergiás betegségek

A legújabb kutatások felvetették a TLR-ek, köztük a TLR-4 szerepét az allergiás megbetegedések, nevezetesen az atópiás dermatitis, az ekzema, valamint az asthma bronchiale (AB) pathomechanizmusában.

A bakteriális LPS a TLR ligandok prototípusa. Bár in vitro, az LPS elsősorban az IgE szintézis fokozódását eredményezi, egereken végzett kutatások során arra derült fény, hogy az LPS-eknek stimuláló vagy szuppresszív hatása is lehet. In vivo végzett vizsgálatok szerint amennyiben az LPS-el való találkozás a szenzitizáció előtt történik, az LPS gátolja az allergén specifikus IgE termelést. [137] Egereken végzett kísérletek alapján úgy tűnik, hogy az LPS dózisa és az adagolás időtartama meghatározó faktorok a TLR- kötődés által kiváltott hatás kifejeződésében az allergiás válaszreakció során. Alacsony dózisban belélegzett LPS elősegíti a szenzitizáló antigénre bekövetkező Th2 választ és az eosinophil sejtes gyulladást, míg magas dózisú LPS adagolás Th1 választ indukált eosinophil gyulladás nélkül, bár az utóbbi esetben az egerek tüdejében emelkedett a neutrophil sejtek száma is. [138] A nagy dózisú LPS által indukált neutrophil beáramlás a klinikai tapasztalatok alapján is helytálló lehet, mivel a neutrophilek fontos szerepet játszanak az asthma pathogenezisében. Mindemellett azonban asthmás betegek egy csoportjában kimutatták, hogy LPS belélegzése növeli a bronchiális obstrukтивitást a neutrophil válasszal egyidejűleg. [139]

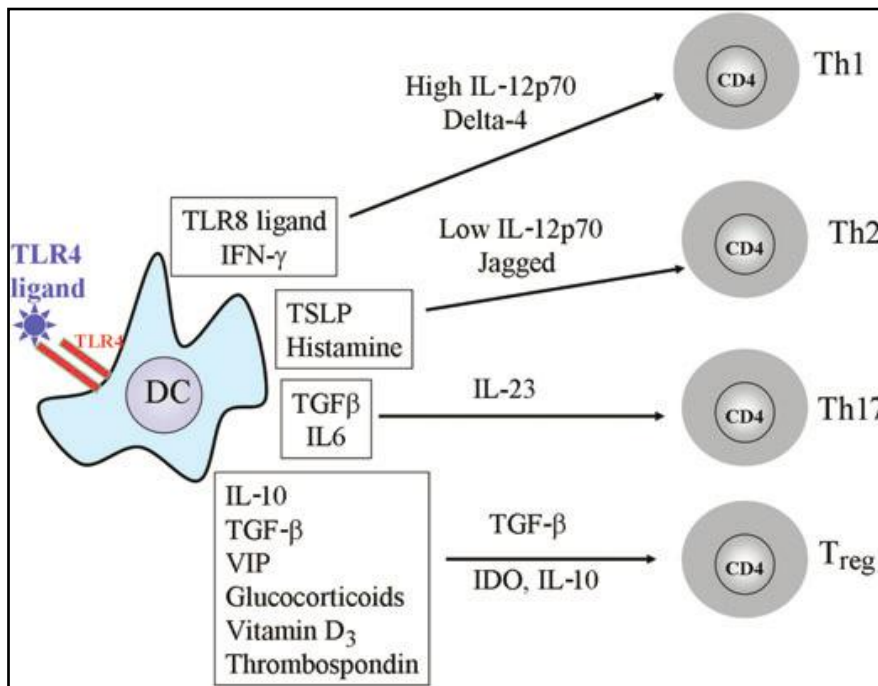
Az egyedfejlődés során a bakteriális LPS-el való korai találkozás valószínűleg szükséges ahhoz, hogy optimális védelmet nyújtson az allergiás reakciók kialakulásának megelőzésében. Két, a közelmúltban közzétett tanulmány a fenti publikációval egybehangzóan megállapította, hogy az LPS expozíció időtartama és üteme egyaránt fontos tényező. Egereknek intranasalisán adott LPS napi adagolása során allergiás reakció nem volt megfigyelhető, ellentétben a hetente adott LPS-expozícióval. A másik közlemény szerint TLR-deficiens egerek súlyosabb asthmás válaszreakciót mutatnak hosszútávú, alacsony dózisú LPS inhaláció esetén, mint rövidebb ideig tartó expozíció során. [140, 141]

Számos tanulmány rámutat, hogy az LPS expozíció hatása az allergiás válaszreakciókra valószínűleg nagyobb a korai életszakaszban, mint felnőtt egyedekben. Kísérleti körülmények között, újszülött egerek légútjaiba juttatott LPS megakadályozta az allergén-expozícióra bekövetkező Th2 típusú immunválaszt. [142] Humán vizsgálatok során is hasonló eredményre jutottak. Atópiás gyermekek nasalis mucosájának vizsgálatakor kimutatták, hogy a bejuttatott LPS képes volt gátolni a lokális allergiás gyulladást, azáltal, hogy a Th1/Th2 egyensúlyt Th1 irányba tolt. Ugyanez felnőttek vizsgálatakor nem volt megfigyelhető. [143]

A TLR-4 ligandok által befolyásolt atópiás rendellenességek számos sejttípust érintenek, melyek az allergiás válasz kezdeti vagy effektív fázisában szerepelnek. A legtöbb tanulmány a TLR-4 ligandok dendritikus sejtekre (DC) kifejtett hatására fókuszál, mivel azok játszanak központi szerepet a Th2 sejtek szabályozásában, melyek az allergiás reakció legfőbb irányítói. A TLR-4 ligandok a DC sejtek érését segítik elő, melyek a fő histocompatibilitási komplex II (MHC, major histocompatibility complex) up-regulációját, kostimulátor molekulák, valamint bizonyos citokinek termelésének növekedését eredményezik, amelyek a CD4+ T-sejtes választ irányítják.

Attól függően, hogy milyen faktorok találhatók meg a dendritikus sejtek mikro környezetében, a TLR-4 DC sejtre kifejtett hatása különböző lesz, és ez befolyásolja a termelt citokinek mennyiségét és minőségét, ezáltal a T-sejtes válasz típusát (5. ábra). Mivel az IL-12 fontos szerepet tölt be a Th1 típusú immunválasz kialakításában és fenntartásában és gátolja a naív CD4+ prekurzor-sejtek Th2 típusú

sejtekkel való átalakulását, így magas IL-12 produkció mellett a Th1, míg alacsony IL-12 szint esetében a Th2 típusú immunválasz dominál. Erőteljes gyulladásszerű stimulussal összefüggésben, főleg, ha egyéb TLR ligandok is jelen vannak és IFN- γ is termelődik, a prekursor T-sejtek Th1 sejtekké differenciálódnak. Abban az esetben, ha az epithelsejtek, stromasejtek és a hízósejtek által termelt hisztamin és/ vagy TSLP (thymic stromal lymphopoietin) nagy koncentrációban van jelen, a dendritikus sejtek Th2 irányba terelik a T-sejtes választ. Ez az út dominál az AR kialakulása során. Az AB-val kapcsolatban úgy gondolják, hogy a Th2 dominancián kívül a Th17 sejteknek is kóros szerepe lehet, nemcsak a neutrophil beáramlás, hanem a bronchiális fibroblastok által termelt pro-fibrotikus citokinek termelésének elősegítésével is. A regulátor T-sejtekkel való differenciálódás egy másik fő útvonalat jelent a naív T-sejt DC sejttel való interakciója során. Ez az út leginkább exogén antigének és gyulladásszerű citokinek termelésének a hiányában, autológ faktorok hatására valósul meg. [144]



5. ábra A TLR-4 ligand pleiotrop hatása a dendritikus sejtekre (DC) [144]

5. A PPAR fehérjék

A PPAR fehérjék (peroxisome proliferator activated receptor) a magreceptorok szupercsaládjába tartozó transzkripciós faktorok, amelyek képesek gének átírását szabályozni. [145] Alapvető szerepet játszanak a celluláris differenciációban, érésben, a szénhidrát-, fehérje- és zsírsanyagcserében és a tumorogenezisben is. Metabolikus szenzorként működnek, így szerepük lehet az elhízás, a 2-es típusú diabetes mellitus és az atherosclerosis kialakulásában. [146]

1.5. 1. A PPAR fehérjék története

A PPAR fehérjéket eredetileg a *Xenopus* békában fedezték fel. Aktivációja a sejtek peroxiszómájának proliferációját indítja el. [147] Az első PPAR-t (a PPAR- α -t) úgy fedezték fel, hogy peroxiszóma proliferátor hatású anyagok molekuláris célpontjait kutatták. Megfigyelték, hogy a rágszálók májszövetében emelkedett a peroxiszómák száma, és ezzel egyidejűleg erősödött az inzulin iránti érzékenység. [148] Világossá vált, hogy a PPAR fehérjéknek sokrétű biológiai szerepe van. A hozzájuk kötődő hatóanyagokat PPAR ligandoknak kezdték el hívni. Jelenleg több mint 1700 ilyen vegyület ismert.

1.5. 2. Genetika

A PPAR három fő formáját (PPAR- α ; PPAR- β/δ ; PPAR- γ) különböző génszakaszok kódolják.

PPAR- α - 22q13

PPAR- β/δ - 6p21

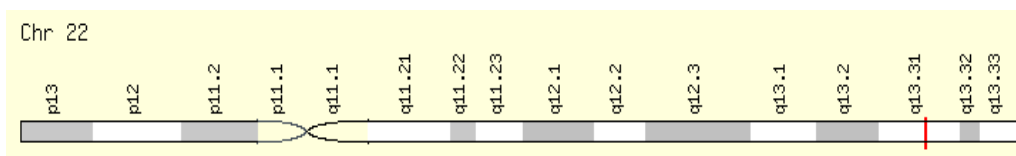
PPAR- γ - 3p25

Részletesebben a vizsgálatokban szereplő PPAR- α és a PPAR- γ adatait ismertetem.

A PPAR- α (PPARA) alternatív elnevezése: NR1C1, hPPAR, nuclear receptor subfamily 1 group C member, MGC2452, MGC2237, PPARalpha, OTTHUMP00000197740,

OTTHUMP00000197741. A fehérje javasolt neve: Peroxisome proliferator-activated receptor alpha.

A gén a 22q13.31 régióban található.



kezdet: **46,546,424** bp a pter-től

vég: **46,639,653** bp a pter-től

méret: **93,230** bázis

A gén promoter régiójában a következő transzkripció faktor kötőhelyek találhatóak: C/EBPalpha, AP-1, HNF-4alpha2, STAT5B, STAT5A, c-Fos, c-Jun, COUP-TF1, PPAR-gamma1, PPAR-gamma2.

A PPAR- α területen 885 SNP-t tartanak nyilván. Eddig 8 alternatív splice variánst találtak.

A gén nyolc orthológja ismert, a kutya, a csimpánz, az egér, a patkány, a tehén, a csirke, a zebrahal és az afrikai karmos béka génjei.

A fehérje mérete: 468 aminosav, 52225 Da molekulatömegű. Heterodimer, partnere a retinoid X receptor.

A fehérje aminosav- szekvenciája a következő:

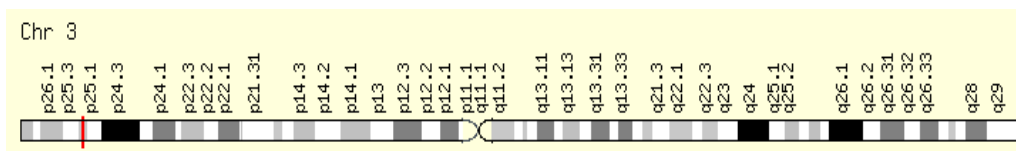
```
MVDTESPLCP LSPLEAGDLE SPLSEEFMQE MGNIQEISQS IGEDSSGSFG
FTEYQYLGSC
PGSDGSVITD TLSPASSPSS VTYPVVPGSV DESPSGALNI ECRICGDKAS
GYHYGVHACE
GCKGFFRRTI RLKLVYDKCD RSCKIQKKNR NKCQYCRFHK CLSVGMSHNA
IRFGRMPRSE
```

KAKLKAELT CEHDIEDSET ADLKSLAKRI YEAYLKNFNM NKVKARVILS
 GKASNNPPFV
 IHDMETLCMA EKTLVAKLVA NGIQNKEAEV RIFHCCQCTS VETVTELTEF
 AKAIPGFANL
 DLNDQVTLK YGVYEAIFAM LSSVMNKDGM LVAYGNGFIT REFLKSLRKP
 FCDIMEPKFD
 FAMKFNALEL DDSDISLFVA AIICCGDRPG LLNVGHIEKM QEGIVHVLRL
 HLQSNHPDDI
 FLFPKLLQKM ADLRQLVTEH AQLVQIIKKT ESDAALHPLL QEIYRDMY

A proteinnek 14 interakciós fehérjepartnere ismert, és 685 kémiai anyaggal való kapcsolódását közölték. A PUBMED adatbázisban 2286 publikációt tartanak nyilván a disszertáció készítésekor, és sok száz különféle biológiai folyamattal és kórállapottal való kapcsolatot ismertettek. A legerősebb asszociáció a következő folyamatokkal mutatkozik: lipídanyagcsere és dyslipidaemia, zsírmáj, hepatocarcinogenezis, inzulin érzékenység és inzulinrezisztencia, 2-es típusú diabetes mellitus, atherogenezis, szívizom és harántcsíkolt izom eltérések, inflammáció (-log p-val nagyobb 10).

A PPAR- γ (PPARG) alternatív elnevezései: NR1C3, PPARG2, PPARG1, nuclear receptor subfamily 1 group C member, GLM1, CIMT1, OTTHUMP00000185032, OTTHUMP0000018536. A fehérje javasolt neve: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma.

A PPAR-gamma génje a 3p25.2 régióban helyezkedik el.



kezdet: **12,328,867** bp a pter-től
 vége: **12,475,855** bp a pter-től
 méret: **146,989** bázis

A PPAR- γ gén promoterének területén a következő transzkripció faktorok kötőhelyeit mutatták ki:

deltaCREB, CREB, Egr-1, C/EBPalpha, FOXO1a, Oct-B1, POU2F2C, POU2F2, POU2F1, oct-B3.

A génnek négy alternatív transzkriptje került publikálásra.

A PPAR- γ gén 12 orthológja ismert, a PPAR- α -val azonos nyolc mellett a Drosophila, a Caenorhabditis elegans, a trópusi karmos béka és a Ciona intestinalis génjei.

A PPAR- γ génterületen 720 SNP-t találtak.

A fehérje mérete: 505 aminosav, molekulatömege 57620 Da, heterodimert képez a RXRA-val (ARF 6: adipocyte specific transcription factor 6). Két fehérjeizozform ismert.

Aminosav- szekvenciáik a következők:

Izoform 1

1 mtmvdtempf wptnfgissv dlsvmedhsh sfdikpfttv dfssistphy edipftrtdp
61 vvadykydlk lqeyqsaikv epasppyyse ktqlynkph epsnslmaie crvcgdkasg
121 fhgyvhaceg ckgffrtir lklydrcdl nrhkkssrn kcqycrfqkc lavgmshnai
181 rfgrmpqaek ekllaeiss idqlnpesad lralakhlyd syiksfpltk akarailtgk
241 ttdkspfvly dmnsllmged kikfkhitpl qeqskevair ifqgcqfrsv eavqeiteya
301 ksiggvnld lndqvllky gvheiytml aslmnkdgvl isegqgmtr eflkslrkpf
361 gdfmepkfef avkfnaeld dsdlaifiav iilsgdrpgl lnvkpiedi q dnllqalelq
421 lklnhpessq lfakllqkmt dlrqivteh v qllqvikkte tdmslhpllq eiykdly

Izoform 2

1 mgetlgsdspi dpedsftdt lsanisqemt mvdtempfwp tngfissvdl svmedhshsf
61 dikpfttvdf ssistphyed ipftrtdp v vadykydlklq eyqsaikvep asppyysekt
121 qlynkph eep snslmaiecr vcgdkasgfh ygvhacegck gffrtirkl lydrcdlnc
181 rihkkssrnkc qycrfqkcla vgmshnairf grmpqaek ekllaeissdid qlnpesadlr

241 alaklydsy iksfpltkak arailtght dkspfviydm nslmmgedki kfkhitplqe
 301 qskevairif qgcqfrsvea vqeiteyaks ipgfvnldln dqvtllkygv heiiytmlas
 361 lmnkdgvlis egqgfmtref lkslrkpfgd fmepkfefav kfnaeldds dlaiaviiv
 421 lsgdrpglln vkpiediqrn llqalelqlk lnhpessqlf akllqkmtdl rqivtehvql
 481 lqvikktted mslhpllqei ykdly

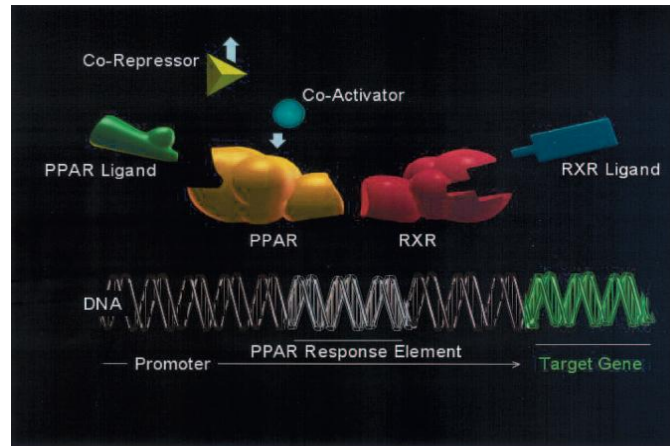
A PPAR- γ fehérjéknek 36 interakciós protein partnerét tartják számon és 889 kémiai anyaggal való kapcsolódását publikálták eddig.

A PPAR- γ -ról publikált közlemények száma a disszertáció írásakor 4445 volt. A PPAR- γ részt vesz számos biológiai folyamatban és számos betegség pathomechanizmusában. A legszorosabb kapcsolat az inzulinrezisztenciával, inzulinérzékenységgel, elhízással, diabetes mellitussal, a zsírszövet működésével, a zsírszöveti differenciálódással, lipodystrofiával, daganatok kialakulásával, folyadékretencióval, atherogenezissel, inflammatorikus folyamatokkal mutatkozik (-log p-val nagyobb 15, Genecards/PPARG).

Örökletes rendellenességet valamennyi PPAR altípusnál leírtak, amelyek általában funkcióvesztéshez vezetnek. Ennek eredményeként lipodystrofia, emelkedett testtömeg-index, inzulinrezisztencia, illetve achantosis nigricans alakulhat ki. [149]

1.5.3. PPAR-ok szerkezete

A többi szteroid hormon nukleáris receptorhoz hasonlóan a PPAR-ok is 5 moduláris domént tartalmaznak: egy ligand-kötő domént (LBD), amelyhez a specifikus PPAR agonisták kötődnek, egy transzaktivációs domént (aktiváló funkció 2), amely a ligand-kötés által kiváltott válaszban szerepel (transzkripcionális aktivitás megindulásához szükséges konformáció változáson megy át), és egy DNS-kötő domént, amely kölcsönhatásban van a PPAR által szabályozott célgének promoter régiójában lévő PPAR response element-ekkel (PPRE). Ezekon kívül tartalmaz még egy N- és egy C-terminális véget. [150] (6. ábra)



6. ábra A PPAR rendszer működése [150]

1.5.4. A PPAR-ok biológiai hatásai

Három PPAR izotípust azonosítottak idáig: PPAR- γ , PPAR- α és PPAR- δ (PPAR- β vagy PPAR- β/δ néven is ismertek) Annak ellenére, hogy minden egyes PPAR izotípus egyedülálló tulajdonságokkal rendelkezik, mégis ezek a receptorok biológiailag hasonlóak. A PPAR aktiváció az LBD liganddal rokon ligand kötésével kezdődik (6. ábra). A ligandkötés és az aktiváló funkció 2 működése lehetővé teszi a PPAR heterodimerizációját a retinoid X receptorral (RXR), amely egy, saját ligandja (feltehetően 9 *cis*-retinoid sav) által aktivált másik nukleáris receptor, mellyel való kapcsolódás a PPAR transzkripcionális aktivitásához szükséges. [151, 152] Az RXR önmagával és más specifikus nukleáris receptorokkal is képes dimerizálódni. Saját DNS-kötő doménjeik révén a PPAR/RXR komplex a DNS promoter régióban lévő szekvencia specifikus régióhoz, a PPRE-hez kötődik. A transzkripcionális PPAR válasz nagymértékben függ a ligand-indukálta válasz erősségétől (recruitment), illetve a járulékos molekulák, koaktivátorok és korepresszorok kapcsolódásától. Ezek a kofaktorok határozzák meg döntően a celluláris PPAR választ. [153,154,155,156] Ez a multiprotein komplex transzkripciót indukál kromatin-átrendeződéssel, kölcsönhatásba lépve a sejt transzkripciós apparátusával. A PPAR aktiváció a célgénnek pozitív szabályozása mellett a transzkripció gátlását is eredményezheti. [157,158] A PPAR válasz számos folyamathoz hasonlóan foszforilációval szabályozott. [159,160]

Valójában minden egyes PPAR izotípust különböző gének kódolnak. Ezek az izotípusok különböző szöveti eloszlást mutatnak és különböző specifikus ligandokat kötnek, ezen kívül szabályozni képesek egyedi célgéneket.

Az egymást nem átfedő klinikai hatások szintetikus PPAR agonistákkal vizsgálhatók, mely szintén alátámasztja a PPAR izotípusok közötti biológiai különbségeket.

A PPAR izotípusok és agonisták közötti különbségek megértése fontos lépés lehet a PPAR-ok jövőbeni terápiás célpontként történő felhasználását illetően. A legnagyobb eltérés a szerkezeti homológiában a PPAR izotípusok között az LBD-ben rejlik. [161] Összehasonlítva más nukleáris receptorokkal a PPAR-ok különösen nagy LBD résszel rendelkeznek. Az LBD résszel különböző módokon történő kapcsolódás révén a specifikus PPAR agonisták egyedi válaszokat képesek indukálni a receptorok különböző konformációs változása révén, melyhez hozzájárulnak a PPAR modulátorként működő járulékos molekulák is. Ennek a koordinált mechanizmusnak köszönhetően a PPAR aktiváció kifinomult transzkripcionális szabályozást eredményez. Mivel a PPAR-okat extracelluláris szignálok aktiválják, és ezek kiválthatnak pozitív illetve negatív szabályozást is különböző jelátviteli utakon, így a PPAR aktiváció megfelel a transzkripciós csomópont klasszikus definíciójának.

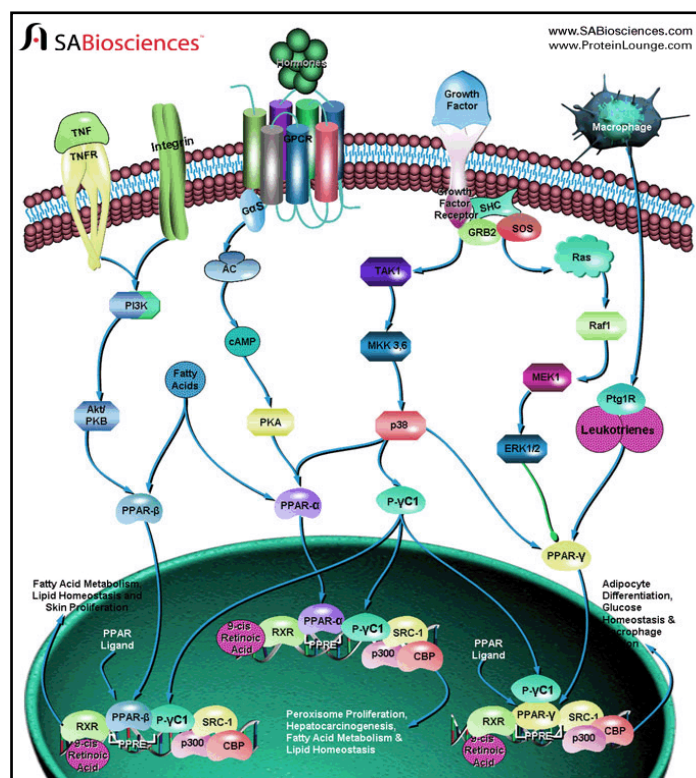
Az inzulinérzékenységet növelő tiazolidéndionok (pioglitazon, roziglitazon) PPAR- γ aktivátorok, amelyeket a diabetes mellitus terápiájában használnak. [162,163] A trigliceridszintet csökkentő és HDL szintet növelő fibrátok (gemfibrozil, fenofibrát) PPAR- α agonisták, melyek a dyslipidaemia kezelésében klinikailag bizonyítottan hatékonyak. [164,165]

Korábbi tanulmányok felvetették, hogy bizonyos többszörösen telítetlen zsírsavak, mint a linolsav és a linolénsav, kötődni képesek az összes PPAR-hoz. [164,166,167,168] Bár ezen megfigyelések nagy előrelépést jelentettek a témában, mégis ezek az adatok főleg az in vitro viszonyokra vonatkoznak, nagy zsírsavkoncentráció mellett igazak, kevés információt nyújtanak a szelektív PPAR izotípus aktivációról, és megoldatlanul hagyják az endogén lipid-metabolizmus és a PPAR válasz közötti kapcsolatot. Nemrégiben azonosítottak olyan specifikus lipid-metabolizmus utakat, amelyek PPAR aktivációt képesek elindítani. A lipoprotein-lipáz (LPL) egy „kulcsenzim” a triglicerid metabolizmusban, amely hidrolizálja a trigliceridben gazdag lipoproteineket, csakúgy, mint a VLDL, ezzel képes felszabadítani a PPAR számára megfelelő ligandokat. [169,

170] Újabb kutatások ezt a modellt kiterjesztették más lipoprotein szubsztrátokra és a lipázokra. [171] Például az endothelialis lipáz a HDL hidrolízise során PPAR aktivációt hoz létre, egy olyan metabolikus úton keresztül, amely eltér az LPL által kiváltott PPAR választól. [172]

Egyéb specifikus PPAR aktivátorokat is leírtak már, beleértve a 15-d-prosztaglandin J2-t [173], az oxidált linolsavat [174], a leukotriéneket [175] és a lizofoszfátid savat. [176] Ezen molekulák közül néhánynak biztosan van PPAR-független hatása is [177], élettani fontosságuk megismerése a jövő feladata lesz.

Mindhárom PPAR izotípusnak leírták az erekre kifejtett hatását - az intracelluláris jelátviteli utakra gyakorolt módosító hatását is beleértve-, a szénhidrát- és lipidhomeosztázisban és a gyulladásban betöltött szerepét. [178] Az egyes PPAR-ok funkcionális szabályozását és ezek lehetséges terápiás célpontként történő felhasználását az egyes izotípusok expressziós mintázatának, célgénjeinek bemutatásával, valamint a receptoraktivációra adott biológiai hatás leírásával ismertetném.



7. ábra A PPAR molekulák aktivációjához vezető transzdukciós utak, és hatásaik [179]

1.5.4.1. PPAR- α – a zsírsavmetabolizmus egyik központi szabályozója

A PPAR- α fontos szerepet játszik a zsírsavak β -oxidációjának szabályozásában, ezzel fő szerepet tölt be a sejtek energiaháztartásának szabályozásában. [180] Ebből következik, hogy a PPAR- α elsősorban az energiaigényes szövetekben expresszálódik, úgymint a máj, szív, harántcsíkolt izomszövet valamint a vese. [181] A PPAR- α célgének olyan fehérjéket kódolnak, amelyek a zsírsav felvételhez, az intracelluláris transzportozáshoz és a β -oxidációhoz szükségesek, így pl. a zsírsav transzport proteint, a zsírsav transzlokázt, a hosszú láncú zsírsav acetyl-coenzim A szintázt és a karnitin palmitoil-transzferáz I enzimet. [182] A PPAR- α aktiváció az LPL expresszióját indukálja, amely a trigliceridben gazdag lipoproteineket hidrolizálja, ezzel nagy szerepet tölt be a zsírsavanyagcsere szabályozásában. A PPAR- α gátolja az apolipoprotein (Apo) CIII expressziót, amely az LPL aktivitás endogén inhibitora. [183,184] A PPAR- α segíti a fő HDL apolipoproteinek (ApoAI és ApoAII) expresszióját. [185,186] Ezeket a biológiai hatásait ismerve, a fibrátokra adott klinikai válasz – trigliceridszint csökkenés, a zsírsavkörforgásban betöltött szerep, a HDL szint emelése – a PPAR- α aktivációval magyarázható. Megjegyzendő, hogy éhezés hatására a PPAR- α expressziója erősen fokozódik, ezzel is alátámasztva ennek a transzkripciós faktornak a sejt energiaháztartásban betöltött fontos szerepét. [187]

Az életképes, de metabolikusan decompenzált PPAR- α - deficiens egér modell a PPAR- α biológiájának mélyebb tanulmányozását teszi lehetővé. PPAR- α hiányos egereknél emelkedett szabadzsírsav koncentrációt és zsírmájat írtak le, amely a zsírsavak oxidációjának hiányára vezethető vissza. Nem meglepő, hogy ezek az egerek hypoglikémiások voltak, melyet a glukoneogenezishez szükséges- zsírsavból származó- szénláncok hiánya eredményezett. [188] A PPAR- α agonisták által indukált peroxisómális proliferáció a PPAR- α -deficiens egerekben elmarad, mely genetikai bizonyíték lehetne, bár nem lehet egy az egyben vonatkoztatni az emberre.

A PPAR- α hatások változatosak lehetnek a szöveti lokalizációtól függően. Bár úgy gondolják, hogy PPAR- α agonisták testsúlycsökkentő hatással bírnak [189,190,191], mégis az egér izomban túlexpresszált PPAR- α -val végzett újabb tanulmány azt veti fel, hogy a PPAR- α elősegítheti az elhízással összefüggő diabetes kialakulását. [192] Ezen eredmények összefüggése az emberi szervezetben még kevésbé feltárt. Bár sok részlet

még tisztázásra vár, de kijelenthető, hogy a PPAR- α a metabolikus egyensúly egyik molekuláris szenzora, és egy funkcionális koordináló csomópont az energia egyensúly és a lipid-metabolizmus transzkripcionális szabályozásában.

1.5.4.2. PPAR- α az érrendszer integritásában és az atherogenezisben

A szintetikus agonistákra, illetve bizonyos zsírsavakra bekövetkező PPAR- α aktiváció csökkenti az endothelialis gyulladós választ, és a vasculáris sejtadhéziós molekula-1 expresszióját, amely az atherogenezis korai fázisában játszik szerepet. [193,194,195] Az a felvetés, hogy a fibrátok a PPAR- α aktivációja révén csökkentik a vasculáris sejtadhéziós molekula-1 expresszióját, alátámasztottnak látszik, hiszen hibás szerkezetű szintetikus PPAR- α agonisták is képesek ezt a hatást kiváltani endothelialis sejtekben, ugyanakkor PPAR- α -deficiens egerekben ez nem jelenik meg. [169-193] A PPAR- α genetikai eredetű hiányában a bazális endothelialis vasculáris sejtadhéziós molekula-1 expressziója nő, ez egy azon bizonyítékok közül, melyek felvetik a PPAR- α gyulladásgátlásban betöltött szerepét. [169,171] Számos más endothelialis PPAR- α célpont létezik, így pl. a redox-válaszban részt vevő enzimek, és a nitrogén-oxid jelátvitelben szereplő enzimek. [196,197,198] A PPAR- α -nak ezen célpontokra gyakorolt gátló hatása a proinflammatorikus nukleáris faktor- κ B (NF- κ B) gátlása révén valósul meg. [199] A PPAR- α aktivációja növeli az I κ B transzkripcióját, amely lehetséges, hogy citoplazmatikus NF- κ B inhibitoraként működik, vagy direkt módon avatkozik bele az NF- κ B kialakulásába. [200,201]

1.5.4.3. PPAR- γ – kulcsfontosságú regulátor az adipogenezisben és az inzulinszenzitivitásban

A PPAR- γ fehérjének 3 szubtípusa ismert, amelyek egyazon génnek a termékei (3p25), de alternatív splicing miatt 3 különböző formában expresszálódnak: γ 1, γ 2, γ 3. [202]

- γ 1: valamennyi szövet illetve szerv termeli, többek között a szív, izomszövet, vastagbél, vese, pancreas és lép
- γ 2: főként a zsírszövetből szabadul fel
- γ 3: a macrophagok, zsírszövet és a bélrendszer expresszálja

A zsírspecifikus transzkripciós faktorok mélyrehatóbb tanulmányozása vezetett a PPAR- γ azonosításához, mely az aP2-höz (adipocyte-restricted intracellular lipid binding protein) szükséges transzkripcionális komplex egyik része. [203,204]

A PPAR- γ adipocyta-differenciációban betöltött szerepét bizonyítja, hogy a PPAR- γ fibroblast sejtenyészetbe történő injektálásakor a sejtek adipocyta-szerű fenotípus irányába differenciálódtak. A PPAR- γ az adipokin-expressziót szabályozza, és más kulcsfontosságú adipocyta proteinekkel is kölcsönhatásba lép. [205,204,206] Az adipogenezis mellett a PPAR- γ részt vesz a lipid-metabolizmus regulációjában is, így az LPL, az acetil-koenzim A szintetáz, az aP2, a GLUT4 glukóz transzporter, a foszfoenol-piruvát-karboxykináz szabályozásában. [163,207] A tiazolidéndionok (TZD) vizsgálata során eleinte hiányzott az a nyilvánvaló molekuláris target, amelynek az inzulinszenzitizáló hatást tulajdonították. Ez a probléma a PPAR- γ előállításával és a TZD-k utólagos karakterizálásával (melyek magas affinitású PPAR- γ ligandok) megoldódott. [162] A PPAR- γ adipocyta-differenciációban betöltött szerepének újszerű és közvetlen bizonyítéka a TZD-k klinikai hatása és az inzulinérzékenységben és elhízásban fontos gének regulált transzkripciója közötti kapcsolat. A PPAR- γ aktiváció és a TZD-k csökkentik a zsírszöveti TNF- α expresszióját is.

1.5.4.4. PPAR- γ az érrendszerben és a gyulladásos folyamatokban

A PPAR- γ expressziója az összes fő vasculáris sejtben, gyulladásos sejtekben és magában az atherosclerotikus laesióban, valamint a tiazolidéndionok enyhe, de szignifikáns vérnyomáscsökkentő hatása a PPAR- γ gyulladásban, vasculáris biológiában és atherosclerosisban betöltött szerepére irányítja a figyelmet. [208] Többször is beszámoltak arról, hogy a PPAR- γ az endotheliumban gátolja az adhézión molekulák expresszióját. Ezt PPAR- γ agonistákkal bizonyították, de in vivo vizsgálatot nem végeztek. [193,194,209] A PPAR- γ agonisták gátolni képesek bizonyos kemokinek expresszióját mind az endothel sejtekben, mind a colon epithel sejtjeiben. A PPAR- γ aktiváció a PPAR- α -hoz hasonlóan gátolja az NF- κ B rendszer aktivációját és a proinflammatorikus citokinek termelődését. [210,211,212,213]

1.5.4.5. PPAR- β/δ

A PPAR- β/δ agonisták alkalmazása nem terjedt el a mai klinikai gyakorlatban, ennek is köszönhető talán az, hogy erről az izotípusról tudjuk a legkevesebbet. A PPAR- β/δ expresszió alapvetően minden sejtben és szövetben megfigyelhető, ez felveti a PPAR- β/δ agonisták celluláris biológiában betöltött lehetséges szerepét és széles hatáskörét. [181,182] A legmagasabb PPAR- β/δ szinteket a vékonybélben, a colonban, a szívben, a zsírszövetben, és az agyban találták. Néhány korábbi tanulmány feltételezte a PPAR- β/δ részvételét az epidermális differenciációban, a kiérésben és a sebek gyógyulásában. [214] Érdekes, hogy a PPAR- β/δ -nak nincs hatása a lipid-metabolizmusban fontos génekre; úgy tűnik, hogy elsősorban a zsírszövet energiafogyasztására hat.

1.5.4.6. PPAR- β/δ a vasculáris rendszerben

A PPAR- β/δ -t a vasculáris rendszerben leginkább monocytákban/macrophagokban vizsgálták. A PPAR- β/δ expresszió mértékét in vitro a monocyta differenciáció alatt emelkedettnek találták, mely során a receptor-aktiváció intracelluláris lipidlerakódást indított meg. [215] Ezen utóbbi hatásért talán az A osztályba tartozó scavenger receptorok és a CD36 megnövekedett expressziója felelősek, mely fehérvérsejtek a lipidraktározásban vesznek részt, valamint gátolják a lipid effluxért felelős géneket. Összefüggésben állhat ezzel, hogy LDL receptor-deficiens egerekben a PPAR- β/δ agonistával történő kezelés nem hozott változást az aorta atherosclerosisának mértékében. [216]

1.6.1. A TNF- α promoter -238 (rs361525) és 308 (rs1800629), a TLR-4 299 (rs 4986790) és 399 (rs4986791), a PPAR- γ Pro12Ala (rs1801282) és C161T (rs 3856806) és a PPAR- α 2468 G/C (rs4253778) pozíciójú polimorfizmusainak vizsgálata

2. Célkitűzések

Munkám során az alábbi célkitűzéseket fogalmaztam meg:

- Értékelni a szérum sTNF- α , sTNFR1, sFas, sFasL, valamint IgE szintek alakulását pollenszezonban, illetve pollenszezon után AR-ben szenvedő betegekben.
- Elemezni a fenti paraméterek összefüggését a betegek klinikai paramétereivel: a tüneti összpontszámmal (tüneti score), illetve a nasalis inspiratorikus csúcsáramlással (PNIF).
- Meghatározni a TNF- α promoter -238 G/A (rs361525) és -308 G/A (rs1800629) G/A, TLR-4 Asp299Gly (D/G) (rs 4986790) és Thr399Ile (T/I) (rs 4986791), a PPAR- γ 2 Pro12Ala (rs 1801282), PPAR- γ C161T exon-6 (rs 3856806) és PPAR- α 2468 G/C intron-7 (rs 4253778) allélpolimorfizmusainak előfordulási gyakoriságát rhinitises betegekben és az egészséges populációban.
- Feltárni a különböző citokin- és IgE szintek kapcsolatát rhinitises betegekben a TNF- α promoter, TLR-4, PPAR- γ és PPAR- α fenti allélpolimorfizmusával.
- Vizsgálni a TNF- α promoter, a TLR-4, valamint a PPAR- γ és - α fenti polimorfizmusainak hatását allergiás rhinitises betegek egyes klinikai paramétereire, nevezetesen a tüneti score és PNIF értékekre, pollenszezon alatt és után.
- Vizsgálni az egyes allélpolimorfizmusok kombinált hatását az AR-es betegek egyes klinikai tüneteire, PNIF értékeire, citokin-, illetve IgE szintjeire.
- Összevetni a kapott eredményeket a nemzetközi irodalomban jelenleg fellelhető hasonló tanulmányok eredményeivel.

3.1. Módszerek

3.2. A vizsgált populáció jellemzői

Vizsgálataimban 66 AR-ben szenvedő, parlagfű allergiás páciens (35 nő és 31 férfi; átlagéletkor \pm SD = 35.91 \pm 1.40) szerepelt. A betegek a Semmelweis Egyetem Fül- Orr- Gégészeti és Fej- Nyaksebészeti Klinikájának Allergológiai Szakambulanciáján 2004-ben nyilvántartott beteganyagából, pozitív Prick-teszt alapján kerültek kiválasztásra, mely során pozitív kontrollként hisztamint, negatív kontrollként fiziológiás sóoldatot használtunk. Az egyidejűleg asthma bronchialeban is szenvedőket kizártam a vizsgálatból.

Kontrollcsoportként 161 olyan hasonló korú, egészséges, allergiás betegségben nem szenvedő referens egyén (87 nő; 74 férfi; átlagéletkor \pm SD = 36.40 \pm 7.11) adatait használtam fel, akik egyéb okból kerültek kórházi felvételre, negatív EKG és laboratóriumi vizsgálati paraméterekkel rendelkeztek, valamint elsőfokú rokonaik körében sem fordult elő allergiás megbetegedés.

A vizsgálatok a betegek előzetes írásos beleegyezésével, a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottságának engedélyével történtek.

3.2. A vizsgálat körülményei

A vizsgálatokat a parlagfű pollenszezon csúcsán, augusztus második és harmadik hetében végeztem, amikor az időszaknak megfelelően a betegek klinikai tünetei elérték a legsúlyosabb mértéket. Az ismételt klinikai és laboratóriumi vizsgálatokat két héttel a pollenszezon befejeződése után, október első és második hetében, tünetmentes időszakban végeztem, mindkét esetben az Országos Epidemiológiai Központ heti pollenjelentésének figyelembevételével. A pollenszezon fennállását a heti átlagosan 100/óra feletti pollenrészecske szám alapján határoztam meg az Országos Epidemiológiai Központ mérései és jelentése alapján.

A vénás vérminták levétele éhomi állapotban történt, a mintákat frissen lecentrifugáltam (2500 x rpm, 20 perc), az így nyert szérumot -80 °C-ra hűtve tároltam a vizsgálatokig. Közvetlenül a felhasználás előtt szobahőmérsékleten felolvasztott szérumokból

végeztem el a citokin- és IgE szintek meghatározását, a megfelelő kitek módszertani leírása alapján.

3.3. Vizsgált paraméterek

A betegek tíz klinikai paraméterét (orrfolyás, orrdugulás, orrviszketés, tüsszögés, szemviszketés, könnyezés, szemvörösség, torokviszketés, köhögés és nehézlégzés) egyenként vizsgáltam, valamint pontoztam (**tüneti score:** 0: nincs tünet, 1: enyhe tünet, 2: mérsékelt tünet, 3: súlyos tünet). Az átlagos tüneti összpontszám kiszámítása során összegeztem a betegek egyes tünetekre adott pontszámait, az így kapott összeget elosztottam az adott csoportban levő emberek számával.

A nasalis belégzési csúcsáramlás (**PNIF**, peak nasal inspiratory flow) értékeit Youlten-féle nasalis csúcsáramlás- mérővel (l/min; Clement Clarke International LTD, Edinburgh Way, Harlow Essex CM 20 2 TT, England) határoztam meg pollenszezon alatt és után a rhinitises és a kontroll csoportban. (8. ábra) A PNIF mérése lehetővé teszi az AR-ben szenvedők klinikai állapotának objektív megítélését. A betegeknél mért PNIF értékek jó jelzői a nasalis obstrukciónak és a betegek szubjektív panaszainak.



8/a. ábra Nasalis inspiratorikus csúcsáramlás (PNIF) mérőeszköz (In-Check Nasal™, Clement Clarke International LTD) [217]

8/b. ábra Youlten- féle PNIF mérőeszköz használat közben [218]

A **sTNF- α** és a **sTNFR1** koncentrációkat TNF- α EASIA és sTNFR1 EASIA (Biosource Europe S.A. Nivelles, Belgium, cat. No. KAC 1752 és KAC1762: 2x96) kitekkel, a gyártó használati útmutatójának megfelelően mértem. A minimális detektálási küszöb 3 pg/ml illetve 50 pg/ml, az assay-n belüli variációs koefficiens (intra- assay CV) értéke 4.4% illetve 4.1%, az assay-k közötti variációs koefficiens (inter- assay CV) értéke 8.8%, illetve 7.3% volt.

A **sFas** szinteket human sAPO-1/ELISA kittel (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria cat No. BMS 245 TENCE) határoztam meg, melynek az érzékenységi küszöbe 13.2 pg/ml volt. Az intra- assay CV értéke 4.5%, az inter- assay CV értéke pedig 3.1% volt. A **sFasL** koncentrációkat az Abnova GmbH (Heidelberg, Germany cat. No. KAO 0159) által gyártott kitekkel mértem. Az eljárás érzékenységét növeltem azáltal, hogy 250 μ l-es szérumbintákat használtam, így 15 pg/ml-es érzékenységi küszöböt értem el. Az intra- assay CV értéke 8.5%, az inter- assay CV értéke 11.5% volt.

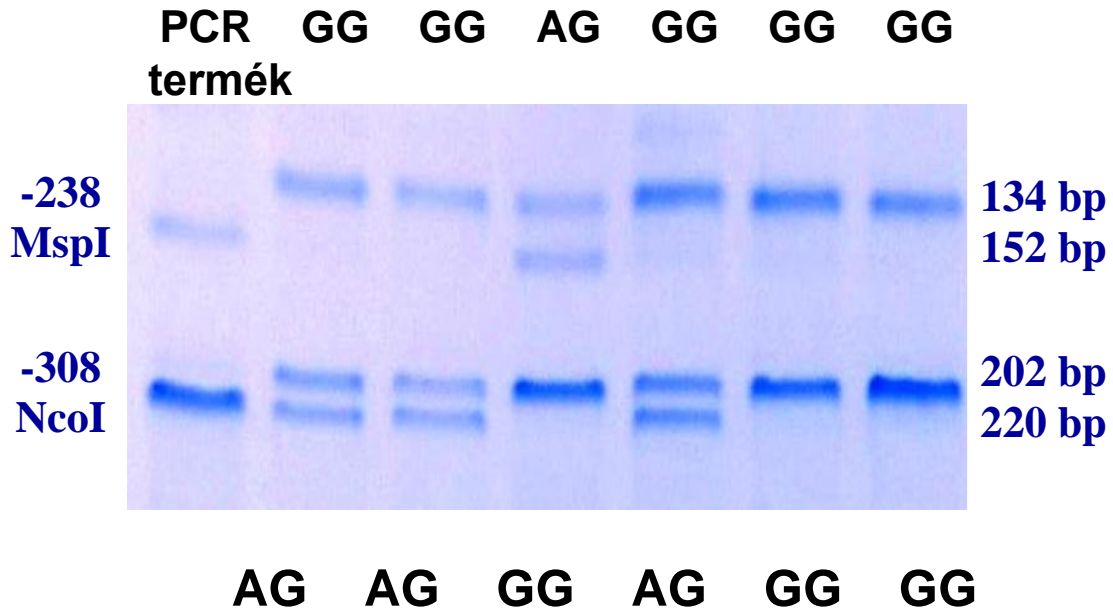
A szérum össz- **IgE** szintjének detektálására ELISA- módszert (ELISA kit, TM Microwell IgE EIA, Synchron Bio Iac, Karlsbad, California, USA) alkalmaztam. A minimális detektálási küszöb 5.0 NE/ml volt. Az intra- assay CV 5.5%, az inter- assay CV 7.3% volt.

A **TNF- α -238** (rs361525) és **-308** (rs1800629) pozíciójú polimorfizmusainak vizsgálata.

A vérminták fehérvérsejtjeiből a DNS-t Miller és mtsai módszerével vontam ki. Az amplifikációt 50 μ l végtérfogatban végeztem a megfelelő primerek segítségével, három primert alkalmazva egy reakció elegyben Day és mtsai által leírt módon. A1: 5' ATC TGG AGG AAG CGG TAG TG 3', M1: 5' AAT AGG TTT TGA GGG CCA TG 3', M2: 5' AGA AGA CCC CCC TCG GAA CC 3'.

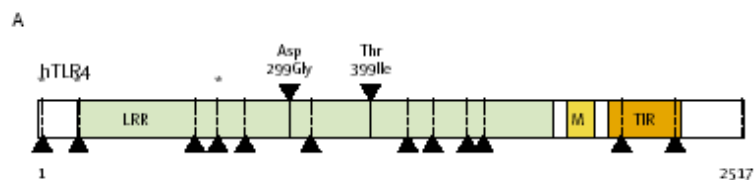
Az A1 és M1 a -308, míg az A1 és M2 a -238 polimorfizmusnak megfelelő szakaszt sokszorozza meg. A termékeket NcoI (-308 polimorfizmus, Promega GmbH, Madison, WI, USA, R6513) és MspI (-238 polimorfizmus, Promega, R6401) restriktációs enzimekkel hasítottam 37 °C-on. A termociklusok a következők: 94°C 5', 30x 95°C 30'', 57°C 30'', 72°C 30''; 72°C 7').

Az így keletkezett különböző hosszúságú termékeket 3.5 %-os agaróz gélen - etidium-bromid jelenlétében – elektroforézissel választottam szét és UV-fénnyel megvilágítva értékeltem AlphaDigidoc rendszert használva. [219,220] (9. ábra)



9. ábra A TNF- α promoter -238 és -308 pozíciójú polimorfizmusainak vizsgálata

A TLR-4 Asp299Gly (D/G, rs 4986790, var 012739) és Thr399Ile (T/I, rs 4986791, var 012740), a receptor jelátvitelét gátló, hypomorf polimorfizmusának tanulmányozása során (10. ábra) a DNS vizsgálatok PCR- RFLP módszerrel történtek.



10. ábra A TLR-4 vizsgált Asp299Gly (D/G) és Thr399Ile (T/I) polimorfizmusainak helye a hTLR-4 génen

A TLR-4 fenti polimorfizmusait allélspecifikus primerekkel **Asp299Gly**: F5'-GAT TAG CAT ACT TAG ACT ACT ACC TCC ATG -3' és R5'-GAT CAA CTT CTG AAA AAG CAT TCC CAC-3' primerrel és **NcoI** enzimmel, a **Thr399Ile**: F5'-GGT TGC TCT TCT CAA AGT GAT TTT GGG A GAA-3' és R5'-CCT CAA GAC TCG AGA GTG AGT TAA ATT CCT-3' primerrel és **HinfI** vizsgáltuk a következőképpen:

TLR-4 399 (rs 4986791, var 012740) esetén a PCR mix: 2 mM dNTP 1 µl, 10x puffer: 1 µl, H₂O 5,9 µl, MgCl₂ 1 µl, 10 µM forward primer 0,2 µl, 10 µM reverse primer 0,2 µl, 5 µ/µl HotStarTaq 0,2 µl (HotStarTaq Master Mix Kit, Qiagen in Hungary), DNS 0,5 µl lemezvájulatonként.

Termociklusok: 95°C 15 min, 30 ciklus: 95°C 30 sec, 55°C 40 sec, 72°C 30 sec, majd 72°C 10 min.

PCR készülék: AB Thermocycler 2720, Applied Biosystems (Foster City, CA, USA)

Emésztés: 10 µl termék, 1 µl puffer, 1 µl **HinfI** (10 U, Fermentas International Inc. Burlington, Ontario, Canada), 37°C-on 120 min.

Futtatás: 3% agaróz gélen 120 V, 25 min.

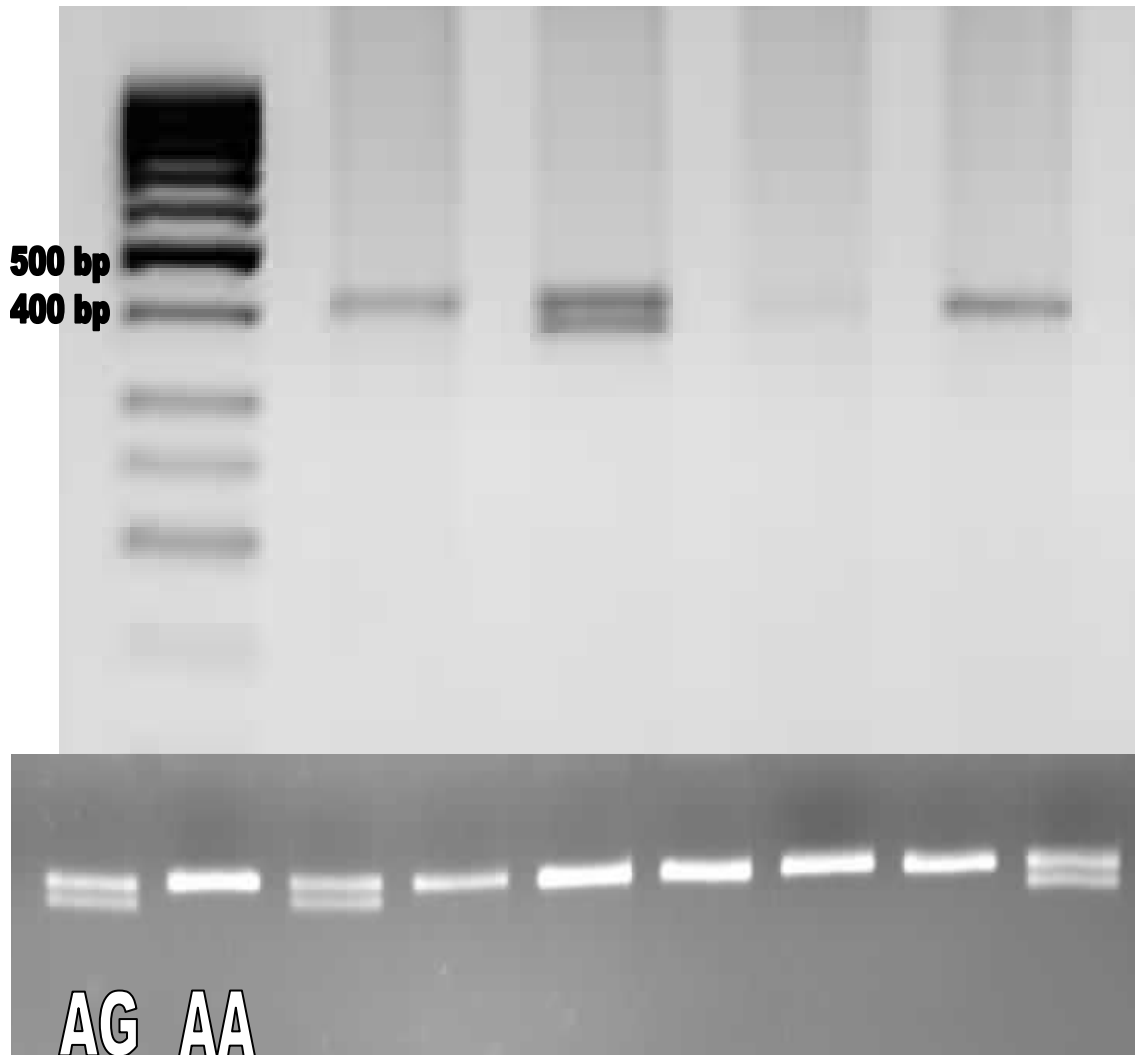
Értékelés: nem hasad- vad (AA); részlegesen hasad- heterozigóta mutáns (AG); teljesen hasad- homozigóta mutáns (GG).

TLR-4 299 (rs 4986790, var 012739) esetén a PCR mix: koncentrációk azonosak az előzőekkel, alkalmazott mennyiségek: dNTP 0,8 µl, 10x puffer: 1 µl, H₂O 6,2 µl, MgCl₂: 0,6 µl, forward primer: 0,1 µl, reverse primer: 0,1 µl, HotStarTaq: 0,4 µl, DNS 0,8 µl

Termociklusok: 95°C, 5 min, 30 ciklus: 95°C 30 sec, 55°C 30 sec, 72°C 30 sec, majd 72°C 10 min.

PCR készülék: azonos a fenti készülékkal.

Emésztés: azonosan az előzővel, enzim: **NcoI** 1 µl (Fermentas International Inc., Burlington, Ontario, Canada), a futtatás (11. ábra) és az értékelés is a fentiek szerint, azonos módon történt.

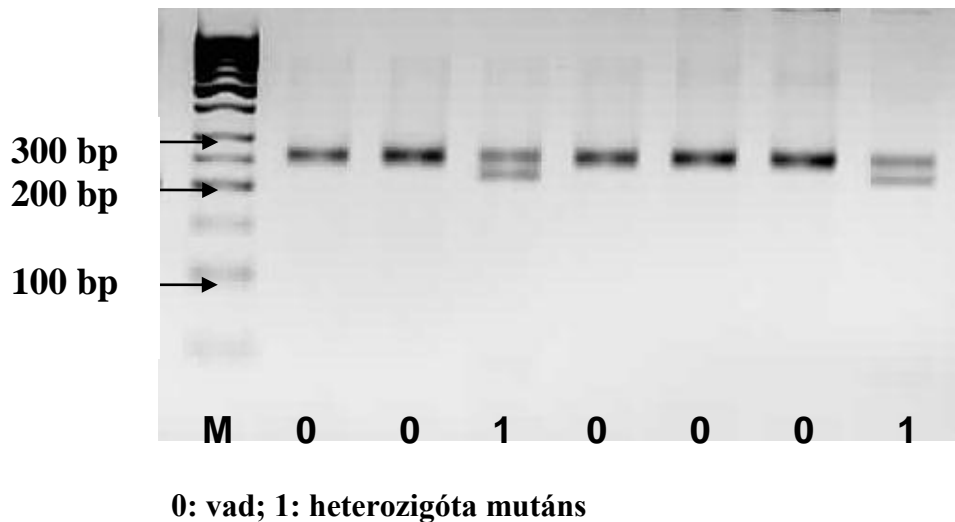


11. ábra A TLR-4 Asp299Gly polimorfizmusának vizsgálata; Bal oldalon a DNS marker létra látható, mellette négy sávban, és az alsó ábrán a vizsgált hasadási termékek: nem hasad, vad- AA; részlegesen hasad, heterozigóta mutáns- AG; teljesen hasad, homozigóta mutáns- GG. Utóbbi a vizsgált beteganyagban nem fordult elő

A **PPAR- γ 2 Pro12Ala** Ala (rs: 1801282) polimorfizmust szintén PCR- RFLP technikával tanulmányoztam, 5' allélspecifikus forward primert GCC AAT TCA AGC CCA GTC és mutáns 3' reverse primert GAT ATG TTT GCA GAC AGT GTA TCA GTG AAG GAA TCG CTT TCC G használtam. A PCR terméket **Bst U1** enzimmel

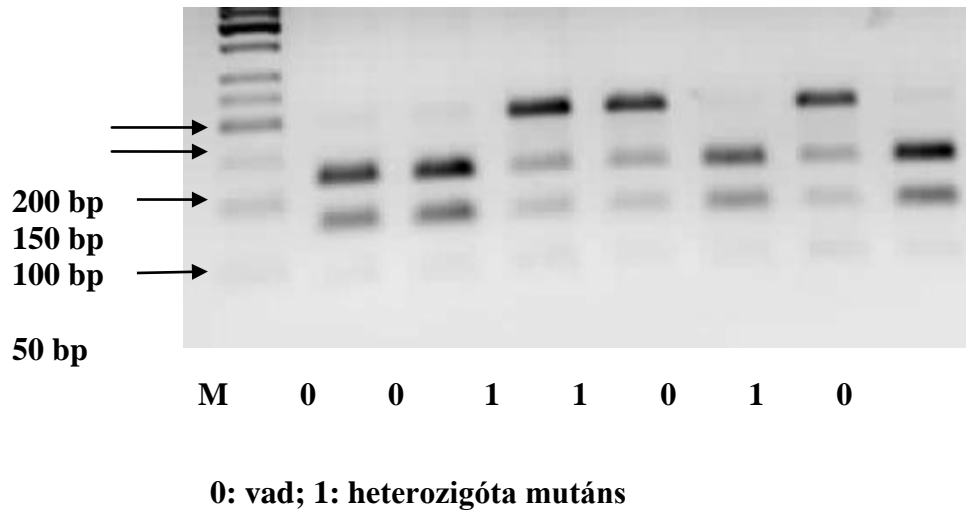
emésztettem (New England Biolabs, Boston, MA, USA), mely a vad típust hordozókban egy 270 bázispárból álló terméket, a mutáns allélt hordozókban pedig egy 277 és egy 43 bázispárból álló fragmentumot eredményezett. Termociklusok: 95°C 15', 35x 94°C 30'', 65°C 45'', 72°C 1'. [221]

PPAR- γ Pro12Ala



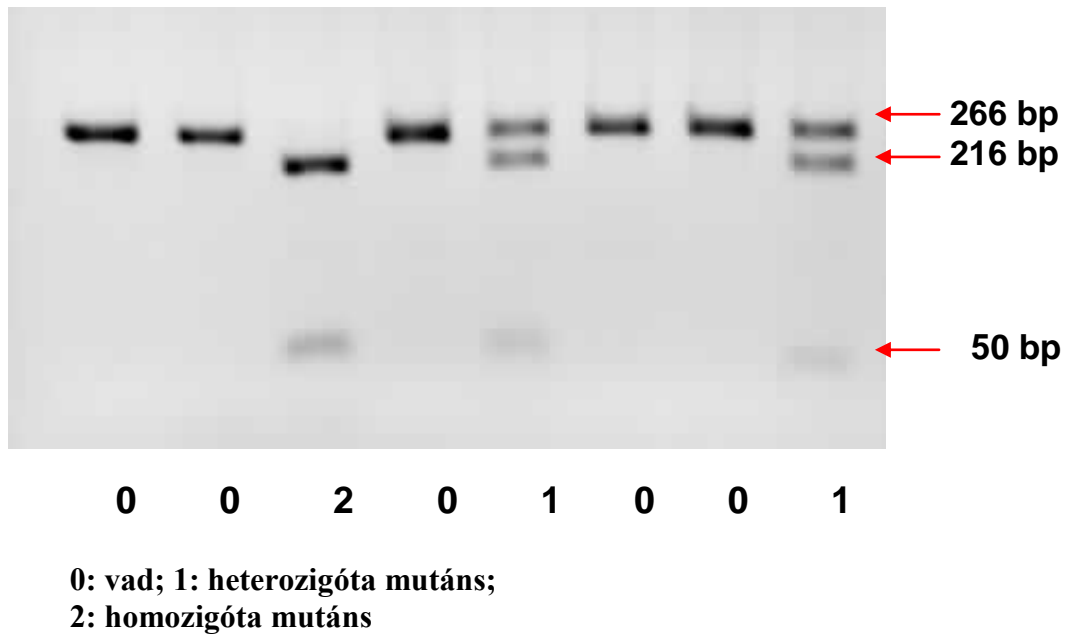
12. ábra A PPAR- γ Pro12Ala polimorfizmusának vizsgálata

A PPAR- γ 6-os exonjának C161T (rs: 3856806) polimorfizmusát PCR- RFLP módszerrel vizsgáltam, 5' forward primer (CAA GAC AAC CTG CTA CAA GC) és 3' reverse primer (CC TTG TAG ATC TCC TGC AG) alkalmazásával, a terméket ezután **Pml1** enzimmel emésztettem (New England Biolabs, Boston, MA, USA), mely a vad típusú allélt hordozókban két, egy 120 és egy 80 bázispárból álló fragmentumot eredményezett, ellentétben a mutáns allélt hordozó egyedek egyetlen 200 bázispárból álló termékével. Termociklusok: 94 °C 15', 30x 94 °C 30'', 56 °C 30'', 72 °C 30''. [222]

PPAR- γ 161 C/T**13. ábra** A PPAR- γ C161T polimorfizmusának vizsgálata

A **PPAR- α 7-es intronján levő 2468 G/C** (rs: 4253778) polimorfizmusának vizsgálatakor PCR-RFLP módszer során 5' forward primerként ACA ATC ACT CCT TAA ATA TGG TGG, 3' reverse primerként pedig AAG TAG GGA CAG ACA GGA CCA GTA szerepeltek. A PCR terméket **TaqI** enzimmel (New England Biolabs, Boston, MA, USA) emésztettük, mely során egy 266 bázispárból álló fragmentum keletkezett a vad allélt, és két, egy 216 ill. egy 50 bázispárból álló fragmentum a mutáns allélt hordozókban. A termociklusok a következők voltak: 94 °C 15', 30x 94 °C 30'', 50 °C 20'', 72 °C 30''. [223]

PPAR- α 2468 G/C



14. ábra A PPAR- α 2468 G/C polimorfizmusának vizsgálata

3.5. Statisztikai feldolgozás

A statisztikai analízist (Mann-Whitney-teszt, Spearman- féle lineáris korreláció, Chi² teszt Yates- korrekcióval és többszörös lineáris regresszióval) PRISMA 4 programmal (Graph Pad Software Inc., La Jolla, California, USA) és SPSS-15.0 Windows programmal (SPSS Inc., Chicago, California, USA) végeztem. Az adatok és eredmények grafikai megjelenítéséhez a PRISMA 4 programot használtam.

4. Eredmények

3.1. Allergiás rhinitisben szenvedő betegek klinikai és laboratóriumi paraméterei pollenszezon alatt és után

Allergiás rhinitises betegekben a klinikai tünetek (1, 2a és 2b táblázat), valamint az ösztüneti score értékek, a szérum TNF- α , sFas, FasL (szintje 11 beteg esetében a detektálási küszöb alatt volt) és az IgE koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak pollenszezon alatt a szezon után mért értékekhez képest. A PNIF értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak pollenszezonban, a TNFR1 koncentrációk Mann-Whitney-teszttel nem különböztek számottevően szezon alatt és után. (15. és 16. ábra, 3a és 3b táblázat) Kiemelendő, hogy nem találtam szignifikáns különbséget a férfi és női betegek citokin- és IgE szintjei között, valamint, hogy nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni a citokin- és IgE szintekben abban a betegcsoportban, melynek tagjai pozitív allergiás anamnézissel rendelkeztek elsőfokú rokonaik tekintetében.

1. táblázat

Klinikai tünetek és ösztüneti score értékek AR-es betegekben pollenszezon alatt és után (betegszám: n=66)

Tüneti score	Szezon alatt	Szezon után
Orrfolyás	114	42
Orrdugulás	106	30
Orrviszketés	62	14
Tüsszögés	106	27
Szemviszketés	110	15
Könnyezés	62	8
Szemvörösség	60	4
Torokviszketés	55	6
Köhögés	42	5
Nehézlégzés	10	1
Ösztüneti score	727	152

2/a. táblázat

Átlagos tüneti score értékek AR-es betegekben pollenszezon alatt

	Orrfolyás	Orr- dugulás	Orr- viszketés	Tüsszögés	Szem- viszketés	Torok- viszketés
Átlag	1.27*	1.10*	0.78*	1.36*	1.43*	0.69*
Std. Hiba	±0.13	±0.13	±0.11	±0.13	±0.13	±0.11
Alsó 95%	1.01	0.84	0.54	1.10	1.16	0.47
Felső 95%	1.53	1.36	1.02	1.62	1.71	0.91

	Könnyezés	Szem- vörösség	Köhögés	Nehézlégzés	Tünetek időtartama (hetek)
Átlag	0.78*	0.51*	0.51*	0.16*	7.04
Std. Hiba	±0.12	±0.11	±0.10	±0.07	±0.42
Alsó 95%	0.53	0.47	0.30	0.02	6.19
Felső 95%	1.03	0.91	0.72	0.30	7.89

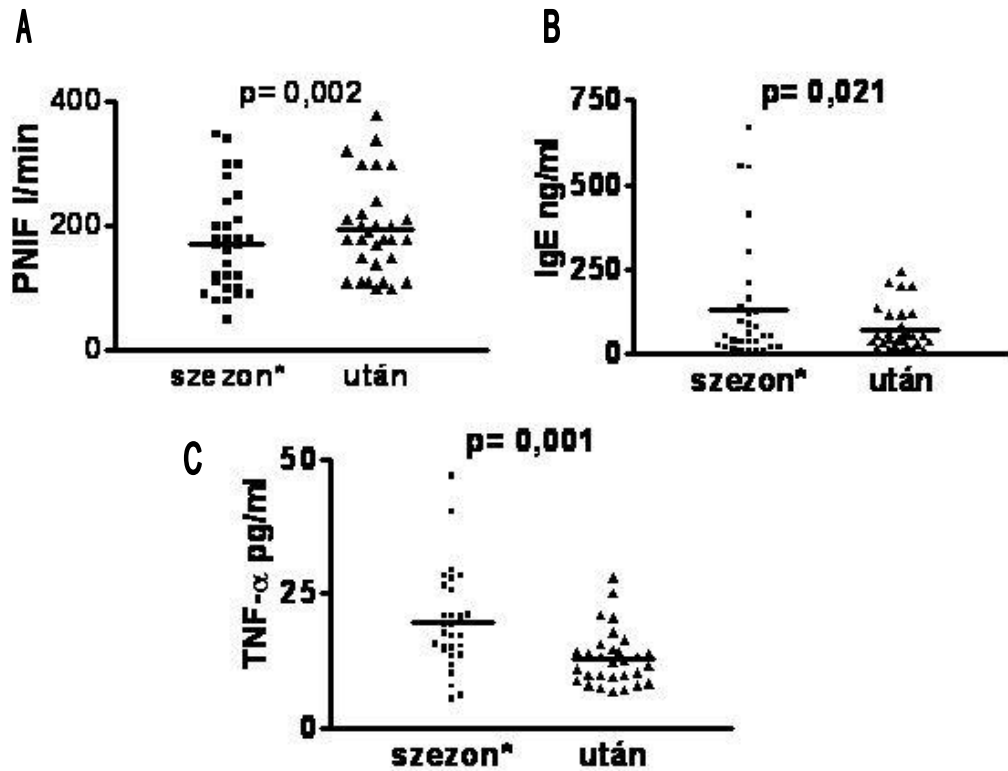
2/b. táblázat

Átlagos tüneti score értékek AR-es betegekben pollenszezon után

	Orrfolyás	Orrdugulás	Orrviszketés	Tüsszögés	Szemviszketés
Átlag	0.25	0.46	0.18	0.34	0.06
Std. Hiba	±0.05	±0.08	±0.05	±0.07	±0.02
Alsó 95%	0.14	0.29	0.07	0.20	0.001
Felső 95%	0.37	0.64	0.28	0.49	0.11

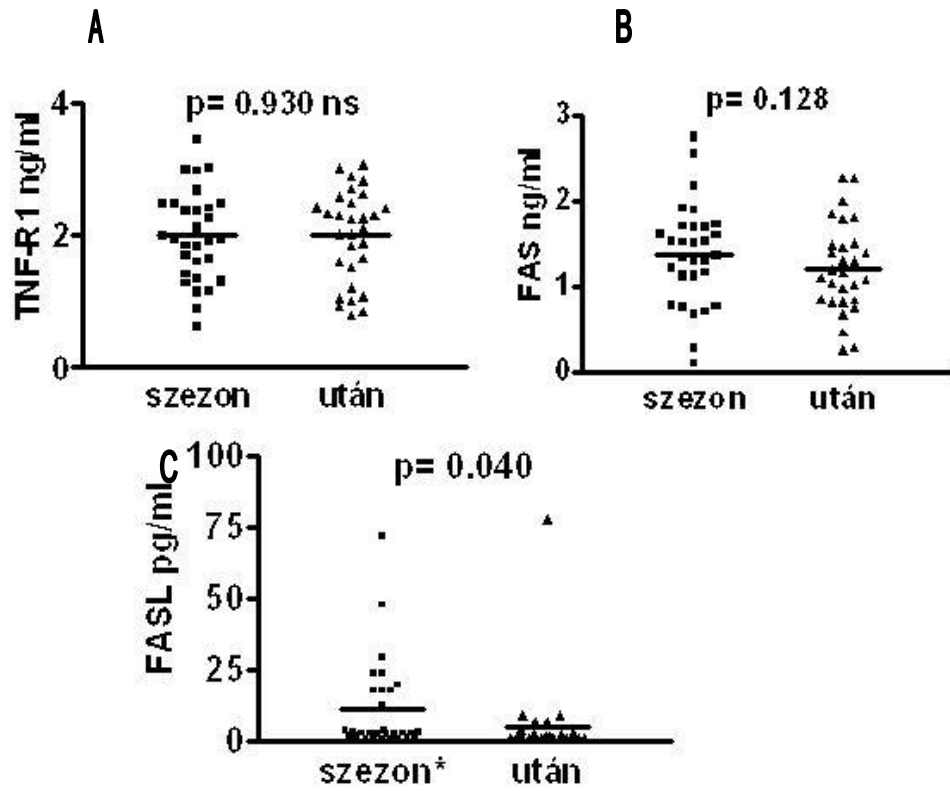
	Torok- viszketés	Könnyezés	Szem- vörösség	Köhögés	Nehézlégzés
Átlag	0.009	0.10	0.04	0.19	0.04
Std. Hiba	±0.04	±0.03	±0.03	±0.05	±0.02
Alsó 95%	0.007	0.02	0.02	0.08	0.006
Felső 95%	0.17	0.18	0.11	0.31	0.09

* $p < 0.01$, Mann-Whitney-teszt, pollenszezon alatt mért értékek a pollenszezon után mért értékekhez képest



15. ábra A PNIF (A), IgE (B) és TNF- α (C) szintek alakulása pollenszezonban és pollenszezon után

*=szignifikáns különbség



16. ábra A TNFR1 (A), Fas (B) és FasL (C) szintek alakulása pollenszezonban és pollenszezon után

*=szignifikáns különbség

3/a. táblázat

AR-es betegek klinikai és laboratóriumi paramétereit pollenszezon alatt

	N	Kor	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR I (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	Össz-tüneti score
Átlag	66	35.91	19.40*	2.08	1.52*	132.5*	134.40*	155.20*	10.52*
Std. Hiba		± 1.40	± 1.43	± 0.07	± 0.09	± 3.5	± 32.89	± 11.50	± 0.59
Alsó 95%		33.11	16.52	1.93	1.31	59.6	67.10	131.70	9.32
Felső 95%		38.71	22.29	2.24	1.72	205.5	201.60	178.60	11.70

3/b. táblázat

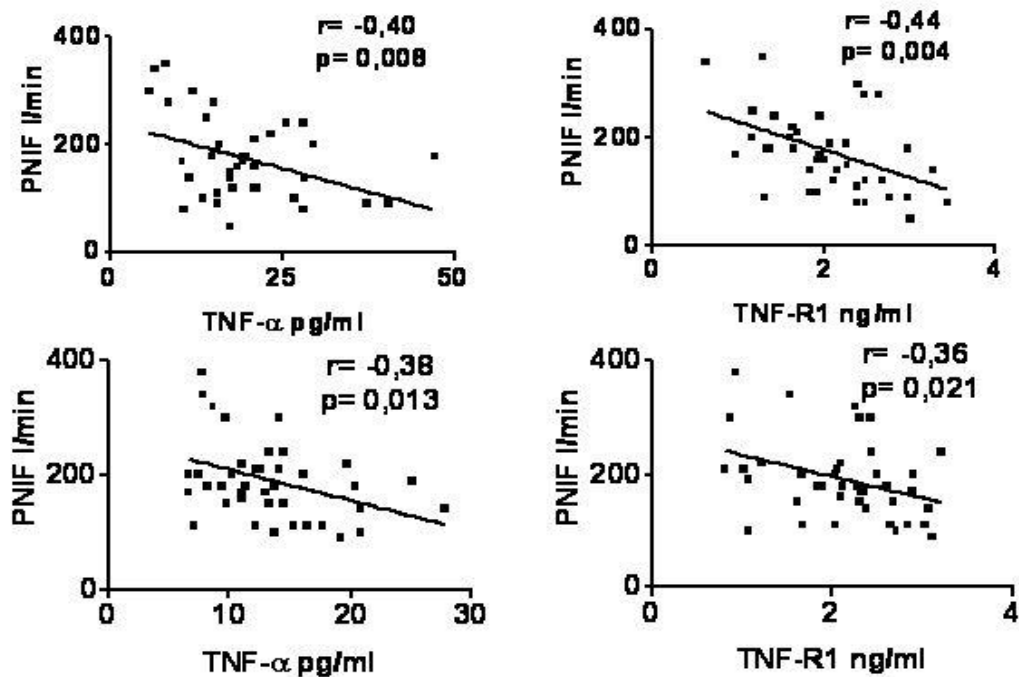
AR-es betegek klinikai és laboratóriumi paramétereit pollenszezon után

	N	kor	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR I (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	Össz-tüneti score
Átlag	66	35.91	13.35	2.05	1.13	23.9	72.86	195.70	1.69
Std. Hiba		± 1.40	± 0.80	± 0.07	± 0.09	± 4.3	± 12.43	± 13.98	± 0.30
Alsó 95%		33.11	11.74	1.90	0.94	15.0	47.41	167.10	1.09
Felső 95%		38.71	14.96	2.20	1.32	32.8	98.32	224.30	2.29

* $p < 0.01$, Mann-Whitney-teszt, a pollenszezon alatti értékek a pollenszezon utáni értékekkel összehasonlítva

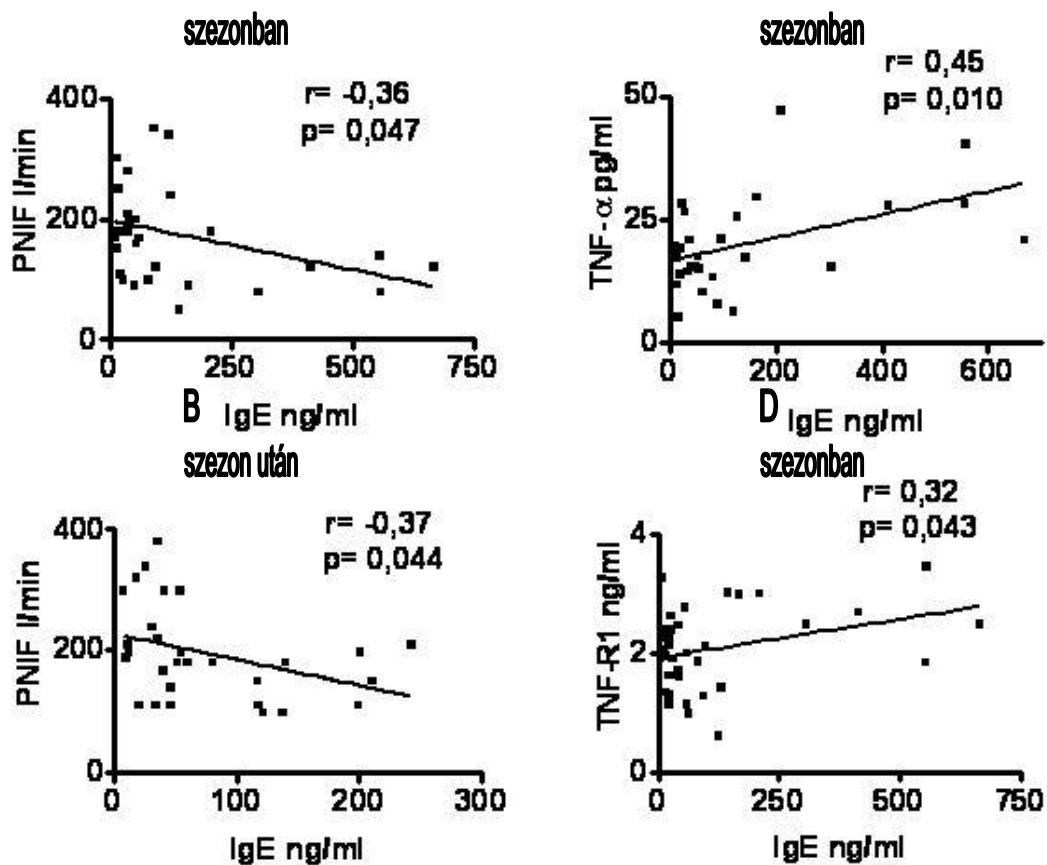
4.2. Klinikai tünetek, laboratóriumi paraméterek és citokinszintek közötti összefüggések rhinitises betegekben

Betegeinkben a szérumban a TNF- α szintek a PNIF értékekkel szignifikáns negatív lineáris korrelációban álltak (Spearman, $p < 0.05$) (szezonban (s) $r = -0.38$, szezon után (su) $r = -0.37$). (17. ábra felső rész A) A szérumban a TNFR1 koncentrációk és a PNIF értékek között szignifikáns negatív lineáris korrelációt találtam (s $r = -0.44$, su $r = -0.36$) szezonban és szezon után is. (17. ábra alsó rész, B)



17. ábra A PNIF értékek korrelációja a TNF- α és TNF-R1 szintekkel pollen szezonban (felső két ábra A) és szezon után (alsó két ábra B, Spearman)

A PNIF- értékek és az IgE- koncentrációk között pollenszezonban és a szezon után egyaránt szignifikáns negatív lineáris korrelációt (Spearman, $p < 0.05$) találtam (18. ábra A és B). A pollenszezonban mért sTNF- α - és sTNF-R1- szintek az IgE- szintjével pozitívan korreláltak (s $r: 0.41$ su $r: 0.41$.) pollenszezon (18. ábra C és D), szezon után ez az összefüggés már nem mutatkozott.



18. ábra A szérum IgE szintek, a TNF- α , TNFR-1 koncentrációk és PNIF értékek közötti korrelációk AR-es betegekben pollenszezon alatt és után (Spearman)

Szignifikáns negatív lineáris korrelációt találtam (Spearman, $p < 0.05$) a szérumban a Fas koncentrációk és a PNIF értékek (s r: -0.32, su r: -0.34), valamint az IgE koncentrációk (s r: 0.39, su nem szignifikáns) között pollenszezonban. A Fas ligand szintje pollenszezonban a PNIF értékekkel negatívan (s r: -0.40, su nem szignifikáns), az IgE szintekkel pedig pozitívan korrelált (s r: 0.36, su nem szignifikáns).

Vizsgálataim során a szérumban az IgE szintek és az ösztüneti score értékek (s r=0.36, su r:0.34) között szignifikáns pozitív lineáris korreláció (Spearman, $p < 0.05$) mutatkozott szezon alatt és után is.

4.3. Allergiás rhinitises betegek citokin- és IgE szintjeinek, valamint klinikai tüneteinek elemzése pollenszezon alatt és után

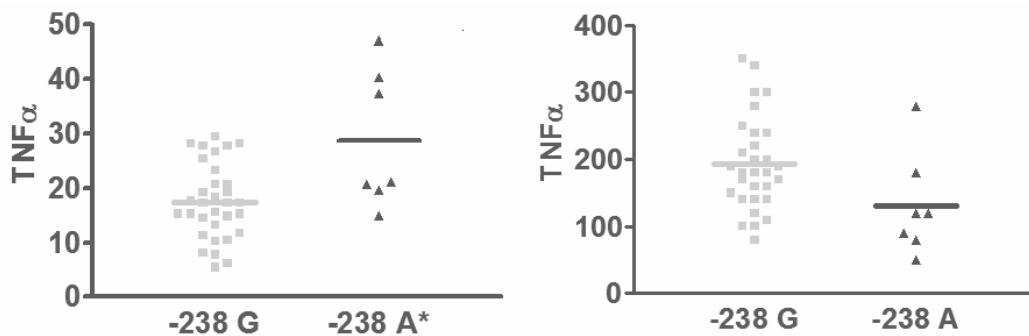
SPSS 15.0 programmal végzett többváltozós regressziós analízis alapján feltételezhető, hogy a szolubilis TNF- α (standardizált koefficiens $\beta = 0.372$, $t = 3.599$, $p = 0.01$) és az IgE (standardizált koefficiens $\beta = 0.289$, $t = 2.680$, $p = 0.009$) szintek a legfontosabb előjelzői a betegek PNIF értékeinek. A vizsgálat során kiderült, hogy az IgE szintek alakulását jól jelzi a szolubilis TNF- α (standardizált koefficiens $\beta = 0.241$, $p = 0.046$) és a Fas ligand (standardizált koefficiens $\beta = 0.279$, $p = 0.026$) szintje.

4.4. A TNF- α promoter -238 G/A és -308 G/A pozíciójú allélpolimorfizmusainak összefüggése a klinikai tünetekkel, citokin koncentrációkkal és az IgE szintjével AR-es betegekben

A TNF- α promoterén a -238-as pozícióban az A allél előfordulási gyakorisága 5.3%-os (7/132; A allél gyakorisága: 0.053, G allél gyakorisága: 0.947) volt a vizsgált allergiás rhinitises betegekben (6/66 beteg, ezek közül 1 volt homozigóta az A allélra). A referens csoportban a -238A allél előfordulási gyakorisága 1.24% volt (3/161). A -238A allél hordozóinak száma szignifikánsan magasabb volt az allergiás rhinitises csoportban

(Fisher-féle egzakt teszttel, $p=0.01$, OR:4.45, CI95%:1.28-15.48), mint a kontrollcsoport tagjai között (4/318, $n=161$, mindegyikük heterozigóta volt).

A -238A allélt hordozókban szignifikánsan (Mann-Whitney, $p<0.05$) magasabb volt a szérum TNF- α (A s:28.78 \pm 4.73 pg/ml, su:18.54 \pm 2.58 pg/ml, G s:18.23 \pm 1.37 pg/ml, su: 12.25 \pm 0.67 pg/ml) és az IgE szintje, (A s:269.20 \pm 141.20 IU/ml, su:89.25 \pm 38.53 IU/ml, G s:107.40 \pm 26.87 IU/ml, su: 59.745 \pm 11.39 IU/m) valamint az átlagos tüneti score érték (A s:18.83 \pm 1.53, su:3.00 \pm 0.88, G s:9.68 \pm 0.52, su: 1.34 \pm 0.29) a 238G allélvariáns hordozókhoz képest. (19. ábra a TNF- α szintek különbségét mutatja a G és A allélt hordozókban).



19. ábra A TNF- α promoter -238 G/A polimorfizmus kapcsolata a TNF- α szintekkel

*=szignifikáns különbség

A PNIF értékek ezekben a betegekben szignifikánsan alacsonyabbak voltak a vad típusú allélt hordozókhoz képest. (4a és 4b táblázat, 20. ábra)

4/a. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF értékek és az átlagos tüneti score értékek pollenszezon alatt és után a TNF- α promotor -238 G allélt hordozó betegekben

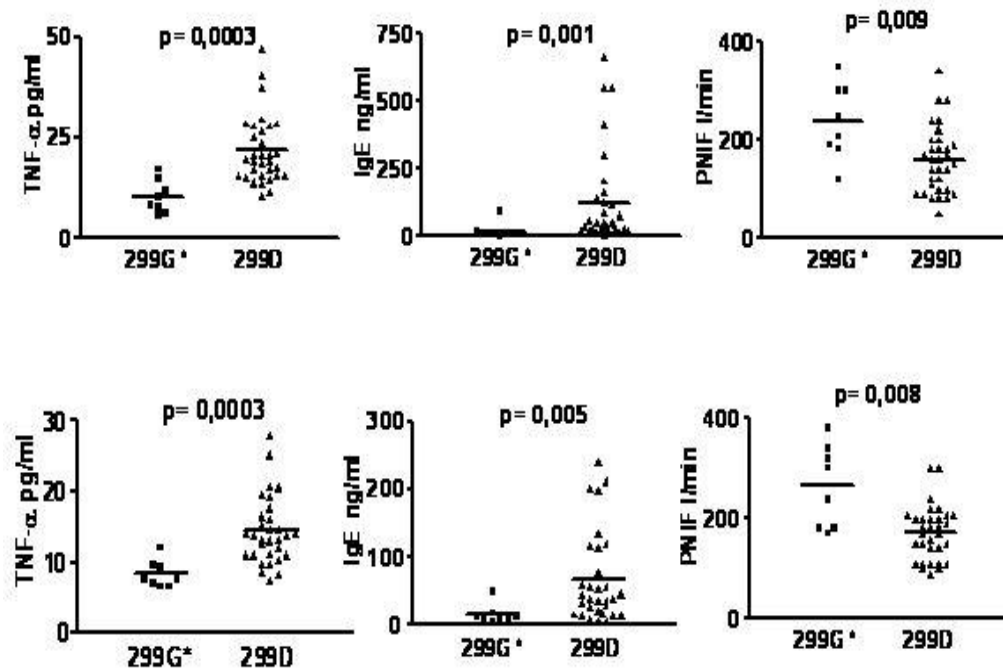
		N	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	tüneti score
-238G szezon alatt	Átlag	59	18.23	2.09	1.35	79.0	107.40	186.20	9.68
	Std. Hiba		± 1.37	± 0.09	± 0.07	± 24.6	± 26.87	± 12.73	± 0.52
	Alsó 95%		15.44	1.88	1.20	29.3	51.94	160.30	8.62
	Felső 95%		21.02	2.29	1.51	129.5	162.90	212.10	10.74
-238G szezon után	Átlag	59	12.25	1.91	1.14	12.0	59.74	198.80	1.34
	Std. Hiba		± 0.67	± 0.10	± 0.08	± 6.1	± 11.39	± 12.07	± 0.29
	Alsó 95%		10.88	1.69	0.96	5.0	36.49	174.30	0.76
	Felső 95%		13.62	2.12	1.32	24.0	83.00	223.40	1.92

4/b. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF értékek és az átlagos tüneti score értékek pollenszezon alatt és után a TNF- α promotor -238A allélt hordozó betegekben

		N	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	Össz-tüneti score
-238A szezon alatt	Átlag	7	28.76*	2.11	1.77	96.0	269.20*	127.50*	18.83*
	Std. Hiba		± 4.73	± 0.26	± 0.43	± 14.0	± 141.20	± 25.55	± 1.53
	Alsó 95%		17.17	1.26	0.55	17.0	122.80	67.09	14.88
	Felső 95%		40.35	2.95	2.98	362.0	661.20	187.90	22.78
-238A szezon után	Átlag	7	18.54*	1.93	1.32	15.6	89.25*	177.50	3.00*
	Std. Hiba		± 2.58	± 0.41	± 0.34	± 3.4	± 38.53	± 28.21	± 0.88
	Alsó 95%		12.22	0.61	0.35	0.5	33.37	110.80	1.00
	Felső 95%		24.68	3.24	2.28	58.9	211.90	244.20	4.99

* $p < 0.05$ Mann-Whitney-teszt, a vad típusú allélt hordozók értékei a mutáns allélt hordozók értékeihez képest pollenszezon alatt és után



20. ábra A TLR-4 299 G/D polimorfizmus kapcsolata a TNF- α , IgE szintekkel és PNIF értékekkel AR-s betegekben pollenszezonban (felső sor) és szezon után (alsó sor, Mann-Whitney teszt)

A TNF- α promoter -308 A alléljának előfordulási gyakorisága 9.09%-os volt (12/132; A allél előfordulása: 0.091, G allél előfordulása: 0.909) a vizsgált allergiás rhinitises betegekben (11/66 beteg, közülük 1 homozigóta a -308 A allélra), és 18.01%-os (58/322; A allél gyakorisága: 0.180, G allél gyakorisága 0.820; 54/161 beteg, közülük 4 homozigóta a -308 A allélra) a kontrollcsoportban. Az allélmegoszlás különbségei statisztikailag szignifikánsnak bizonyultak Fisher-féle egzakt teszttel ($p=0.02$, OR:0.45, CI95%:0.23-0.88).

A -308 G allélt hordozókban ($n=54$) pollenszezonban szignifikánsan magasabb volt a TNF- α , a sTNFR1, a Fas ligand és az IgE szintje, valamint a tüneti score értéke, a PNIF értékek pedig szignifikánsan alacsonyabbak voltak a -308A allélt hordozókhoz ($n=12$) képest. Pollenszezon után a TNF- α , a TNFR1, a Fas ligand, az ösztüneti score és a

PNIF értékek is szignifikánsan különböztek a -308G allélt és a mutáns allélt hordozókban. (5a és 5b táblázat)

5/a. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF értékek és az átlagos tüneti score értékek pollenszezon alatt és után a TNF- α promoter -308G allélt hordozó betegekben

		N	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	Össz-tüneti score
-308G szezon alatt	Átlag	54	22.02*	2.54*	1.69	97.6*	147.70*	133.70*	11.11*
	Std. Hiba		± 1.64	± 0.18	± 0.13	± 30.0	± 39.80	± 9.27	± 0.64
	Alsó 95%		18.64	2.11	1.39	35.7	65.11	114.70	9.81
	Felső 95%		25.04	2.96	1.99	159.5	230.20	152.60	12.40
-308G szezon után	Átlag	54	15.27	2.18*	1.16	40.0	79.30	161.80*	2.00*
	Std. Hiba		± 0.86	± 0.12	± 0.10	± 26.0	± 14.96	± 13.06	± 0.35
	Alsó 95%		13.49	1.93	0.95	14.1	48.29	135.00	1.28
	Felső 95%		17.06	2.43	1.37	94.1	110.30	188.60	2.71

5/b. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF értékek és az átlagos tüneti score értékek pollenszezon alatt és után a TNF- α promotor -308A allélt hordozó betegekben

		N	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	Össz-tüneti score
-308A szezon alatt	Átlag	12	14.08	1.89	1.34	33.00*	91.86	185.80	7.50
	Std. Hiba		± 2.18	± 0.11	± 0.10	± 2.98	± 53.67	± 19.52	± 0.88
	Alsó 95%		9.85	1.66	1.12	3.44	39.47	142.00	5.55
	Felső 95%		19.40	2.12	1.66	100.40	223.20	228.00	9.44
-308A szezon után	Átlag	12	10.80	1.79	1.07	13.67	48.17	228.00	0.33
	Std. Hiba		± 0.94	± 0.16	± 0.12	± 8.07	± 15.89	± 22.03	± 0.14
	Alsó 95%		8.66	1.43	0.80	7.45	7.32	179.00	0.02
	Felső 95%		12.94	2.16	1.35	19.88	89.01	277.00	0.64

* $p < 0.05$ Mann-Whitney-teszt, a vad típusú allélt hordozók értékei a mutáns allélt hordozók értékeihez képest pollenszezon alatt és után

4.5. A TLR-4 299 (Asp/Gly) és a 399 (Thr/Ile) allélpolimorfizmusok összefüggése a klinikai tünetekkel, a citokinkoncentrációkkal és az IgE szintekkel AR-es betegekben

A TLR-4 Asp299Gly (D/G) és Thr399Ile (T/I) polimorfizmus előfordulási gyakorisága 6.06%-os volt az allergiás rhinitises betegcsoportban (8/132; G allél gyakorisága: 0.061, D allél gyakorisága: 0.939; Hardy-Weinberg egyensúlyban). A mutáció előfordulása nem különbözött ettől szignifikánsan a magyarországi referens csoportban, melyben az előfordulását Fisher-féle egzakt teszttel 5.59%-osnak találtam (18/322; G allél gyakorisága: 0.056, D allél gyakorisága: 0.944), $p=0.82$, $RR=1.062$, $OR=1.09$, $95\%CI$ (0.46-2.57). Homozigóta mutációt sem a betegek között, sem a kontrollcsoport tagjai között nem találtam. A Asp299Gly és a Thr399Ile polimorfizmusok együttesen fordultak elő minden esetben. Mann-Whitney-teszttel, ill. Bonferroni-korrekcióval végzett számítások alapján pollenszezonban a 299G/399I mutáns allélt hordozó betegekben a szérumban a $TNF-\alpha$, a Fas, a Fas ligand és az IgE szintek, valamint az ösztüneti score értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a vad típusú allélt hordozókhoz képest (299D/399T). Ezekben a betegekben pollenszezon után is szignifikánsan alacsonyabb citokin- és IgE szinteket, ösztüneti score értéket, valamint magasabb PNIF értéket mértem a vad típusú allélt hordozó társaikhoz képest. (6a és 6b táblázat, 21. ábra)

6/a. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF értékek és az átlagos tüneti score értékek pollenszezon alatt és után a TLR-4 299 D és 399 T allélt hordozó betegekben

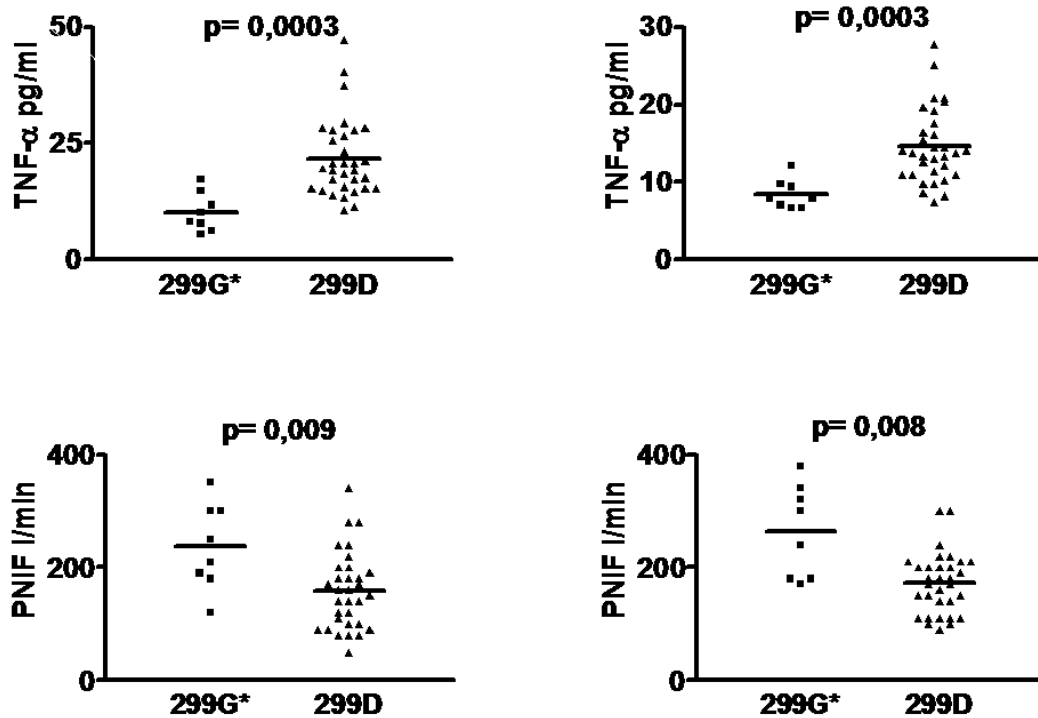
		N	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	Össz-tüneti score
TLR-4 299 D 399 T szezon alatt	Átlag	58	21.70*	2.10	1.33*	65.56*	111.90*	152.60*	11.14*
	Std. Hiba		± 1.49	± 0.10	± 0.08	± 11.56	± 28.72	± 10.84	± 0.62
	Alsó 95%		18.65	1.88	1.16	26.43	54.03	130.50	9.89
	Felső 95%		24.74	2.31	1.49	104.70	169.80	174.70	12.38
TLR-4 299 D /399 T szezon után	Átlag	58	14.58*	1.99	1.14*	33.33*	61.23*	190.60*	1.86
	Std. Hiba		± 0.85	± 0.10	± 0.08	± 22.16	± 11.10	± 11.68	± 0.33
	Alsó 95%		12.84	1.77	0.96	11.66	38.67	166.90	1.19
	Felső 95%		16.32	2.21	1.32	78.32	83.79	214.30	2.53

6/b. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF értékek és az átlagos tüneti score értékek pollenszezon alatt és után a TLR-4 299G és 399I polimorfizmust hordozó betegekben

		N	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	Össz-tüneti score
TLR-4 299 G 399 I szezon alatt	Átlag	8	10.24	2.06	1.18	28.38	34.25	208.30*	6.37*
	Std. Hiba		± 1.47	± 0.20	± 0.12	± 6.64	± 20.34	± 25.22	± 1.51
	Alsó 95%		6.74	1.58	0.88	12.66	30.47	143.50	280
	Felső 95%		13.72	2.54	1.48	44.09	98.97	273.20	994
TLR-4 299 G/399 I szezon után	Átlag	8	8.41	1.78	0.96	14.50	23.00	231.70*	0.50
	Std. Hiba		± 0.67	± 0.22	± 0.16	± 1.32	± 9.70	± 26.88	± 0.26
	Alsó 95%		6.81	1.25	0.55	11.37	7.88	162.60	0.13
	Felső 95%		10.02	2.31	1.36	17.63	53.88	300.80	1.13

* $p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt Bonferoni-korrektúrával, a vad típusú allélt hordozók értékei a mutáns allélt hordozók értékeihez képest pollenszezon alatt és után



21. ábra A TLR-4 299 G/D polimorfizmus kapcsolata a TNF- α szintekkel és PNIF értékekkel rinitises betegekben

4.6. A TNF- α promoter és a TLR-4 receptor vizsgált polimorfizmusainak hatása allergiás rhinitises betegek klinikai tüneteire pollenszezon alatt és után

A fent vizsgált paraméterek közül úgy tűnik, hogy a TNF- α promoter -238 G/A polimorfizmusa áll leginkább összefüggésben a betegek klinikai tüneteivel és citokinszintjeivel pollenszezon alatt és után egyaránt a többi allélvariánshoz képest (-308 G/A, TLR-4 299D/G, -399 T/I). Számos klinikai tünetet szignifikánsan befolyásol egyrészt a TNF- α -238 promoter -238A polimorfizmusának hordozása, így például az orrfolyás és az orrdugulás értékeit, másrészt a TLR-4 299D/399T allél hordozása is hatással van a fenti tüneteire: az orrfolyásra és az orrdugulásra. (7a és 7b táblázat)

7/a. táblázat

Tüneti score értékek a TNF- α promoter -238G/A és -308G/A, valamint a TLR-4 299/399 D/G és T/I polimorfizmusait hordozó betegekben pollenszezon alatt

Átlag \pm SE Tüneti score	TNF- α -238G	TNF- α -238A	TNF- α -308G	TNF- α -308A	TLR-4 299D 399T	TLR-4 299G 399I
N	59	7	54	12	58	8
Orrfolyás	1.15 \pm 0. 13	2.50 \pm 0.2 2*	1.30 \pm 0.1 5	1.15 \pm 0.2 2	1.34 \pm 0.1 4*	0.50 \pm 0.1 8
Orrdugulás	0.95 \pm 0. 11	1.83 \pm 0.3 0*	1.11 \pm 0.1 4	1.07 \pm 0.2 8	1.29 \pm 0.1 4*	0.38 \pm 0.1 7
Orr-viszketés	0.76 \pm 0. 12	1.00 \pm 0.5 1	0.71 \pm 0.1 3	0.92 \pm 0.1 7	0.79 \pm 0.1 3	0.75 \pm 0.2 5
Tüsszögés	1.33 \pm 0. 14	1.66 \pm 0.2 1	1.30 \pm 0.1 5	1.30 \pm 0.1 3	1.39 \pm 0.1 4	1.12 \pm 0.3 5
Szem- viszketés	1.36 \pm 0. 14	2.16 \pm 0.3 0	1.34 \pm 0.1 5	1.34 \pm 0.2 2	1.48 \pm 0.1 4	1.12 \pm 0.3 5
Torok- viszketés	0.70 \pm 0. 12	1.66 \pm 0.4 2	0.88 \pm 0.1 4	1.38 \pm 0.1 8	0.74 \pm 0.1 1	0.38 \pm 0.2 6
Könnyezés	0.46 \pm 0. 11	1.00 \pm 0.4 4	0.49 \pm 0.1 1	0.30 \pm 0.1 3	0.87 \pm 0.1 3	0.13 \pm 0.1 2
Szem-vörösség	0.61 \pm 0. 10	1.50 \pm 0.4 2	0.69 \pm 0.1 2	0.46 \pm 0.2 1	0.53 \pm 0.1 2	0.38 \pm 0.2 6
Köhögés	0.50 \pm 0. 11	0.66 \pm 0.3 3	0.50 \pm 0.1 1	0.53 \pm 0.2 4	0.56 \pm 0.1 1	0.12 \pm 0.1 2
Nehéz-légzés	0.13 \pm 0. 06	0.50 \pm 0.5 0	0.20 \pm 0.0 8	0.15 \pm 0.1 0	0.18 \pm 0.0 7	0.12 \pm 0.1 2

7/b. táblázat

Tüneti score értékek a TNF- α promoter -238G/A és -308G/A, valamint a TLR-4 299/399 D/G és T/I polimorfizmusait hordozó betegekben pollenszezon után

Átlag \pm SE	TNF- α -238G	TNF- α -238A	TNF- α -308G	TNF α -308A	TLR-4 299D 399T	TLR-4 299G 399I
Orrfolyás	0.20 \pm 0.05	0.83 \pm 0.30 *	0.31 \pm 0.06	0.08 \pm 0.08	0.27 \pm 0.06	0.12 \pm 0.12
Orrdugulá s	0.31 \pm 0.06	1.00 \pm 0.25 *	0.48 \pm 0.10	0.25 \pm 0.13	0.43 \pm 0.09	0.37 \pm 0.18
Orr- viszketés	0.18 \pm 0.05	0.33 \pm 0.21	0.20 \pm 0.06	0.08 \pm 0.08	0.18 \pm 0.05	0.12 \pm 0.12
Tüsszögés	0.23 \pm 0.05	0.50 \pm 0.34	0.40 \pm 0.08	0.08 \pm 0.08	0.36 \pm 0.08	0.25 \pm 0.16
Szem- viszketés	0.10 \pm 0.03	0.50 \pm 0.22	0.08 \pm 0.03	0.08 \pm 0.08	0.05 \pm 0.03	0.10 \pm 0.10
Torok- viszketés	0.10 \pm 0.04	0.33 \pm 0.21	0.11 \pm 0.05	0.08 \pm 0.08	0.10 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
Könnyezé s	0.11 \pm 0.04	0.50 \pm 0.22	0.12 \pm 0.04	0.08 \pm 0.08	0.10 \pm 0.04	0.12 \pm 0.12
Szem- vörösség	0.10 \pm 0.03	0.33 \pm 0.21	0.05 \pm 0.04	0.08 \pm 0.08	0.02 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01
Köhögés	0.16 \pm 0.04	0.50 \pm 0.22	0.22 \pm 0.06	0.08 \pm 0.08	0.20 \pm 0.06	0.12 \pm 0.12
Nehéz- légzés	0.03 \pm 0.02	0.16 \pm 0.16	0.05 \pm 0.03	0.00 \pm 0.00	0.05 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00

*p<0.05, Mann-Whitney-teszt, a vad típusú allélt hordozók értékei a mutáns allélt hordozók értékeihez képest pollenszezon alatt és után

4.7. A TNF- α promoter -238 G/A, -308 G/A, valamint a TLR-4 299 D/G és 399 T/I polimorfizmusainak együttes hatása a klinikai tünetekre, a citokin- és az IgE szintekre rhinitises betegekben

Minden olyan vizsgált betegben, akik a TNF- α promoter -238 A mutáns allélját hordozták, megfigyelhető volt a -308G allélvariáns is a TLR-4 299/399 D/T allélok hordozása is. A -238 A hordozó status adatainak korrekciója után a citokinszintek, az ösztüneti score értékek és az IgE koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak azokban, akik a -308G (n=48, TNF- α átlag \pm SE: 19.3 \pm 1.11 pg/ml, IgE: 119.6 \pm 14.08 NE/ml, PNIF 172 \pm 10.08 ml/min, átlagos ösztüneti score 10.04 \pm 0.66) és a 299D/399T (n=52, TNF- α : 19.22 \pm 1.06 pg/ml, IgE: 124.30 \pm 15.36 NE/ml, PNIF 170.31 \pm 9.90, átlagos ösztüneti score 10.67 \pm 0.54) allélvariánsokat hordozták, a -308A és a 299G/399I allélokot hordozókhoz képest. A legalacsonyabb volt az ösztüneti score, a citokin- és az IgE szint, valamint legmagasabb a PNIF érték azokban a betegekben, akik a -238G, -308A és a TLR-4 299G/399I allélokot hordozták.

4.8. A PPAR- γ (rs 1801282, rs 3856806) és PPAR- α (rs 4253778) polimorfizmusok előfordulási gyakorisága AR-es betegekben és az átlagpopulációban

PPAR- γ vizsgálata során a Pro12 allél (rs 1801282) előfordulása 90.185% (119/132, 0.90185, n=53/66, 80.30%), az Ala12 allél előfordulása 9.85% (13/132, 0.0985, n=13/66, 19.70%) volt a rhinitises betegcsoportban. Homozigóta mutáns egyént nem találtam a vizsgált betegek között. A Pro12 allélt hordozók aránya 87.77% (316/360, 0.8777, n=138/180, 76.66%), az Ala12 allélt hordozók aránya 12.22% (44/360, 0.1222, 42/180, 23.33%) volt a kontroll csoportban, ahol két homozigóta egyént azonosítottam. A vad- és a mutáns allélt hordozók megoszlásában nem találtam szignifikáns különbséget a beteg- és a kontrollcsoport tagjai között. (Chi² teszt, 0.00092, RR 0.99, OR 0.99, nem szignifikáns).

A PPAR- γ C alléljának (rs 3856806) előfordulása 89.39% (118/132, 0.8939, n=52/66, 78.78%), a T allél előfordulása 10.61% (14/132, 0.1061, n=14/66, 21.21%) volt a

rhinitises betegekben. Homozigóta beteget nem találtam a rhinitises csoportban. A C allélt hordozók aránya 92.78% (334/360, 0.9278, n=167/180, 92.77%), a T allélt hordozók aránya pedig 7.22% (26/360, 0.0722, 25/180, 13.88%) volt a referens egyének körében, akik között csupán egyetlen homozigóta személyt tudtunk azonosítani. A mutáns allélt hordozók előfordulási gyakorisága nem különbözött szignifikánsan a betegek és a kontroll személyek között (Chi² teszt, 1.48, RR 1.34, OR 1.52, nem szignifikáns).

A PPAR- α polimorfizmus G alléljának (rs 4253778) hordozása 87.87% (116/132, 0.8787, n=50/66, 75.75%), a C allél hordozása 12.12% (16/132, 0.1212, n=16/66, 24.24%) volt a betegek között. A kontroll személyek esetében a G allél hordozása 87.77% (316/360, 0.8777, n=158/180, 87.77%), a C allél hordozása pedig 12.22%-osnak (44/360, 0.1222, n=41/180, 22.77%, 3 homozigóta egyén) bizonyult. A fenti különbség statisztikailag nem volt szignifikáns (Chi² teszt 0.00092, RR 0.99, OR 0.99, nem szignifikáns).

4.9. A PPAR- γ Pro12Ala polimorfizmusának kapcsolata rhinitises betegek klinikai paramétereivel és a citokin koncentrációkkal pollenszezon alatt és után

Szignifikánsan magasabb ösztületi score értékeket, sTNF- alpha, sFas és IgE szinteket, valamint szignifikánsan alacsonyabb PNIF értékeket és sFasL koncentrációkat mértem pollenszezon alatt és után is a mutáns Ala12 allélt hordozó betegekben a Pro12 allélt hordozó társaikhoz képest. (p<0.05, Mann-Whitney- teszt, 8a és 8b táblázat)

8/a. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF- és ösztüneti score értékek pollenszezon alatt és után a PPAR- γ Pro12 allélját (rs 1801282) hordozó rhinitises betegekben

PPAR- γ (rs 1801282)		N	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ ml)	IgE (NE/ ml)	PNIF (ml/ min)	Ösztüneti score
Pro12 szezonban	Átlag	53	17.70	1.99	1.28	93.19*	103.80	183.30	9.45
	Std. hiba		± 0.91	± 0.08	± 0.06	± 15.19	± 9.73	± 10.94	± 0.58
	Alsó 95%		15.87	1.81	1.15	62.72	84.29	161.30	8.27
	Felső 95%		19.53	2.17	1.42	123.70	123.40	205.30	10.63
Pro12 szezon után	Átlag	53	12.62	2.09	1.14	33.62*	50.89	198.90	1.22
	Std. hiba		± 0.53	± 0.09	± 0.06	± 3.25	± 5.66	± 8.90	± 0.25
	Alsó 95%		11.55	1.90	1.01	27.09	39.52	181.00	0.71
	Felső 95%		13.69	2.27	1.27	40.14	62.25	216.70	1.74

8/b. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF- és ösztüneti score értékek pollenszezon alatt és után a PPAR- γ Ala12 allélját (rs 1801282) hordozó betegekben

PPAR- γ (rs 1801282)		n	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	Ösztüneti score
Ala12 szezonban	Átlag	13	26.27*	2.10	1.86*	34.54	260.60*	126.30*	14.15*
	Std. hiba		± 3.20	± 0.10	± 0.16	± 10.79	± 58.09	± 12.08	± 1.40
	Alsó 95%		19.28	1.87	1.50	11.04	134.10	99.99	11.10
	Felső 95%		33.26	2.32	2.22	58.04	387.20	152.60	17.20
Ala12 szezon után	Átlag	13	16.29*	2.22	1.16	19.17	94.57*	151.20*	3.61
	Std. hiba		± 1.41	± 0.12	± 0.16	± 3.80	± 19.23	± 12.59	± 0.97
	Alsó 95%		13.21	1.95	0.81	10.89	52.67	123.70	1.48
	Felső 95%		19.37	2.49	1.51	27.45	136.50	178.60	5.74

* $p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt, a vad típusú, Pro12 allélt hordozók értékei a mutáns, Ala12 allélt hordozók értékeihez képest pollenszezon alatt és után

4.10. PPAR- γ exon6 (rs 3856806) C/T polimorfizmus összefüggése AR-es betegek klinikai paramétereivel és citokin szintjeivel pollenszezon alatt és után

Szignifikánsan magasabb ösztületi score értékeket, sTNF- α és IgE koncentrációkat, valamint szignifikánsan alacsonyabb PNIF értékeket és sFasL (su: nem szignifikáns) szinteket találtam pollenszezon alatt és után is a mutáns T allélt hordozó betegekben a C allélt hordozó társaikhoz képest ($p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt, 9a és 9b táblázat).

9/a. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF és ösztületi score értékek pollenszezon alatt és után a PPAR- γ exon6 (rs 3856806) C allélját hordozó betegekben pollenszezon alatt és után

PPAR- γ (rs 3856806)		N	sTNF- α (pg/ ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ ml)	IgE (NE/ ml)	PNIF (ml/min)	Ösztületi score
C Szezonban	Átlag	52	17.13	2.10	1.37	71.89*	104.20	186.10	9.55
	Std. hiba		± 0.86	± 0.07	± 0.07	± 13.97	± 9.00	± 10.82	± 0.59
	Alsó 95%		15.40	1.95	1.21	43.85	86.13	16.4.40	8.35
	Felső 95%		18.86	2.26	1.53	99.94	122.30	207.80	10.76
C Szezon után	Átlag	52	12.49	2.22.	1.11	29.95	45.80	198.80	1.23
	Std. hiba		± 0.52	± 0.07	± 0.06	± 3.04	± 4.54	± 8.49	± 0.25
	Alsó 95%		11.43	2.06	0.97	23.83	36.67	181.80	0.71
	Felső 95%		13.55	2.38	1.25	36.07	54.92	215.90	1.75

9/b. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF- és ösztüneti score értékek pollenszezon alatt és után a PPAR- γ exon6 (rs 3856806) T allélját hordozó betegekben pollenszezon alatt és után

PPAR- γ (rs 3856806)		N	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng/ml)	sFasL (pg/ml)	IgE (NE/ml)	PNIF (ml/min)	Ösztüneti score
T Szezonban	Átlag	14	27.77*	1.66	1.51	11.78	245.90*	132.10 *	14.07 *
	Std. hiba		± 2.82	± 0.18	± 0.14	± 2.86	± 58.10	± 12.97	± 1.36
	Alsó 95%		25.67	1.27	1.19	5.60	120.30	104.00	11.11
	Felső 95%		33.88	2.05	1.83	17.96	371.40	160.10	17.03
T Szezon után	Átlag	14	16.47*	1.72	1.35	33.82	101.60*	154.30 *	3.42*
	Std. hiba		± 1.30	± 0.19	± 0.12	± 6.94	± 19.99	± 17.34	± 0.93
	Alsó 95%		13.66	1.31	1.09	18.83	58.39	116.80	1.40
	Felső 95%		19.29	2.14	1.61	48.81	144.80	191.80	5.45

* $p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt, PPAR- γ exon6 54347 C>T (rs 3856806) vad és mutáns alléljait hordozó betegek értékeinek összehasonlítása pollenszezon alatt és után

4.11. PPAR- α intron7 (rs 4253778) G/C polimorfizmust hordozók klinikai paramétereinek és citokin szintjeinek vizsgálata AR-es betegekben pollenszezon alatt és után

Szignifikánsan magasabb ösztületi score értékeket, sTNF- α , sFas, sFasL (su: ns) és IgE koncentrációkat, valamint szignifikánsan alacsonyabb PNIF értékeket találtam pollenszezon alatt és után a mutáns C allélt hordozó betegekben a vad típusú, G allélt hordozó társaikhoz képest. ($p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt, 10a és 10b táblázat)

10/a. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF- és ösztületi score értékek a PPAR- α intron7 (rs 4253778) G allélt hordozó betegekben pollenszezon alatt és után

PPAR- α (rs: 4253778)		N	sTNF- α (pg/ml)	sTNFR1 (ng/ml)	sFas (ng /ml)	sFasL (pg/ ml)	IgE (NE/ ml)	PNIF (ml/ min)	Össz- tüneti score
G szezonban	Átlag	50	17.46	2.02	1.31	58.36	117.60	186.00	9.66
	Std. hiba		± 0.91	± 0.08	± 0.07	± 8.75	± 16.34	± 11.14	± 0.64
	Alsó 95%		15.61	1.85	1.15	40.77	84.78	163.60	8.37
	Felső 95%		19.30	2.19	1.46	75.95	150.50	208.40	10.95
G Szezon után	Átlag	50	12.28	2.12	1.06	25.39	48.27	202.40	1.06
	Std. hiba		± 0.51	± 0.09	± 0.05	± 2.70	± 5.73	± 9.00	± 0.20
	Alsó 95%		11.24	1.94	0.94	19.96	36.74	184.30	0.64
	Felső 95%		13.31	2.31	1.18	30.81	59.80	220.50	1.48

10/b. táblázat

Citokin koncentrációk, IgE szintek, PNIF- és ösztüneti score értékek a PPAR- α intron7 (rs 4253778) C allélját hordozó betegekben pollenszezon alatt és után

PPAR- α (rs: 4253778)		N	sTNF- α (pg/ ml)	sTNF R1 (ng /ml)	sFas (ng/ ml)	sFasL (pg/ ml)	IgE (NE /ml)	PNIF (ml/mi n)	Össz- tüneti score
C Szezonban	Átlag	16	25.41*	1.98	1.67*	154.20*	186.30 *	139.30 *	13.19*
	Std. hiba		± 2.76	± 0.16	± 0.13	± 40.36	± 37.61	± 13.40	± 1.22
	Alsó 95%		19.53	1.63	1.39	68.16	106.10	110.70	10.58
	Felső 95%		31.30	2.33	1.96	240.20	266.40	167.90	15.79
C szezon után	Átlag	16	16.45*	2.07	1.48	47.59	86.88*	148.80	3.68*
	Std. hiba		± 1.18	± 0.15	± 0.14	± 6.36	± 16.22	± 12.02	± 0.91
	Alsó 95%		13.93	1.74	1.16	34.03	52.30	123.20	1.74
	Felső 95%		18.98	2.41	1.80	64.15	121.50	174.40	5.63

* $p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt, a vad és a mutáns típusú allélt hordozó betegek értékeinek összehasonlítása pollenszezon alatt és után

4.12. PPAR- γ Pro12Ala, PPAR- γ exon6 C/T és PPAR- α intron7 G/C polimorfizmust hordozó AR-es betegek tüneti score értékeinek elemzése pollenszezonban és szezon után

Szignifikánsan magasabb átlagos tüneti score értékeket találtam orrfolyás, orrdugulás, orrviszketés, tüsszögés, szemviszketés, könnyezés, szemvörösség és torokviszketés esetében pollenszezonban a PPAR- γ Ala12 allélját ($p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt) hordozó betegek esetében. A PPAR- γ exon6 T allélját hordozó betegek esetében orrfolyás, orrdugulás, tüsszögés és könnyezés tüneti score értékei voltak szignifikánsan magasabbak pollenszezonban ($p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt). Szignifikánsan magasabbnak találtam az orrfolyás, orrdugulás és tüsszögés tüneti pontszámait pollenszezonban azokban a betegekben, akik a PPAR- α intron7 C allélját hordozták, a G allélt hordozó társaikhoz képest ($p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt). A pollenszezonban megfigyelt tüneti score értékek különbözőségeit a 11a táblázat foglalja össze. Az orrfolyás és az orrdugulás esetében a tüneti pontszámában mért különbség pollenszezon után is megfigyelhető volt, a pollenszezon utáni értékeket a 11b táblázatban foglaltam össze. Azokban a betegekben, akik a fenti polimorfizmusok kombinációját hordozták ($n=5$), tehát a PPAR- α intron7 C, PPAR- γ 12Ala és a PPAR- γ exon6 T allélokot, nem volt szignifikánsan magasabb a citokin-, IgE szint, az tüneti score érték, és a PNIF értékekben sem találtam szignifikáns csökkenést azokhoz a társaikhoz képest, akik csupán egyetlen vagy két mutáns allélt hordoztak ($n=11$).

11/a. táblázat

Tüneti score értékek a PPAR- γ Pro12Ala, PPAR- γ exon6 C/T és a PPAR- α intron7 G/C polimorfizmusát hordozó AR-es betegekben pollenszezon alatt

Átlag \pm SE Tüneti score	PPAR- γ Pro12	PPAR- γ Ala12	PPAR- γ exon6 C	PPAR- γ exon6 T	PPAR- α intron7 G	PPAR- α intron7 C
N	53	13	52	14	50	16
Orrfolyás	1.03 \pm 0.13	2.00 \pm 0.27*	1.23 \pm 0.14	1.85 \pm 0.27*	1.10 \pm 0.14	1.81 \pm 0.27*
Orrdugulás	0.94 \pm 0.13	1.76 \pm 0.34*	1.92 \pm 0.13	1.64 \pm 0.30*	0.94 \pm 0.14	1.62 \pm 0.27*
Orrviszketés	0.58 \pm 0.10	1.61 \pm 0.34*	0.67 \pm 0.12	1.42 \pm 0.32	0.66 \pm 0.12	1.18 \pm 0.26
Tüsszögés	1.26 \pm 0.14	2.00 \pm 0.27*	1.19 \pm 0.14	2.00 \pm 0.25*	1.18 \pm 0.14	1.93 \pm 0.24*
Szemviszketés	1.28 \pm 0.14	2.07 \pm 0.30*	1.28 \pm 0.15	2.00 \pm 0.25	1.36 \pm 0.15	1.68 \pm 0.35
Könnyezés	0.62 \pm 0.11	1.46 \pm 0.35*	0.59 \pm 0.11	1.50 \pm 0.34*	0.72 \pm 0.13	0.93 \pm 0.75
Szemvörösség	0.32 \pm 0.07	1.23 \pm 0.36*	0.36 \pm 0.10	1.07 \pm 0.28	0.48 \pm 0.12	0.62 \pm 0.25
Torokviszketés	0.52 \pm 0.10	1.38 \pm 0.31*	0.57 \pm 0.11	1.14 \pm 0.25	0.62 \pm 0.12	0.93 \pm 0.24
Köhögés	0.47 \pm 0.10	0.69 \pm 0.32	0.38 \pm 0.10	1.00 \pm 0.25	0.42 \pm 0.10	0.81 \pm 0.26
Nehézlégzés	0.07 \pm 0.03	0.53 \pm 0.31	0.09 \pm 0.04	0.64 \pm 0.30	0.12 \pm 0.06	0.31 \pm 0.19

* $p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt, a vad és a mutáns allélt hordozók tüneti score értékeinek összehasonlítása pollenszezonban

11/b. táblázat

Tüneti score értékek a PPAR- γ Pro12Ala, PPAR- γ exon6 C/T és PPAR- α intron7 G/C polimorfizmusát hordozó AR-es betegekben pollenszezon után

Átlag \pm SE tüneti score	PPAR- γ Pro12	PPAR- γ Ala12	PPAR- γ Exon6 C	PPAR- γ Exon6 T	PPAR- α Intron7 G	PPAR- α Intron7 C
Orrfolyás	0.16 \pm 0.05	0.61 \pm 0.18*	0.15 \pm 0.05	0.64 \pm 0.29*	0.18 \pm 0.05	0.50 \pm 0.15*
Orrdugulás	0.35 \pm 0.08	0.92 \pm 0.23*	0.34 \pm 0.09	0.92 \pm 0.22*	0.42 \pm 0.09	0.62 \pm 0.23
Orrviszketés	0.15 \pm 0.04	0.30 \pm 0.17	0.17 \pm 0.05	0.21 \pm 0.15	0.16 \pm 0.05	0.31 \pm 0.15
Tüsszögés	0.33 \pm 0.08	0.38 \pm 0.18	0.32 \pm 0.07	0.42 \pm 0.20	0.30 \pm 0.08	0.50 \pm 0.15
Szemviszketés	0.05 \pm 0.03	0.07 \pm 0.07	0.05 \pm 0.03	0.14 \pm 0.09	0.08 \pm 0.03	0.12 \pm 0.08
Könnyezés	0.09 \pm 0.04	0.15 \pm 0.10	0.09 \pm 0.04	0.21 \pm 0.11	0.08 \pm 0.03	0.18 \pm 0.10
Szemvörösség	0.28 \pm 0.06	0.38 \pm 0.26	0.03 \pm 0.02	0.21 \pm 0.15	0.06 \pm 0.04	0.12 \pm 0.08
Torokviszketés	0.07 \pm 0.03	0.15 \pm 0.15	0.07 \pm 0.03	0.21 \pm 0.15	0.06 \pm 0.04	0.18 \pm 0.10
Köhögés	0.16 \pm 0.05	0.30 \pm 0.20	0.19 \pm 0.06	0.28 \pm 0.16	0.16 \pm 0.05	0.31 \pm 0.15
Nehézlégzés	0.01 \pm 0.01	0.15 \pm 0.10	0.03 \pm 0.02	0.07 \pm 0.07	0.04 \pm 0.02	0.06 \pm 0.06

* $p < 0.05$, Mann-Whitney-teszt, a vad és a mutáns allélt hordozók tüneti pontszámának összehasonlítása pollenszezon után

5. Megbeszélés

Összehasonlítva AR-ben szenvedő betegekben a pollenszezonban és szezon után mért szérum össz IgE- és sTNF- α - szinteket, valamint PNIF- értékeket, a következő eredményeket kaptam: Pollenszezonban a betegek PNIF- értékei szignifikánsan alacsonyabbak ($p=0,02$), IgE- és sTNF- α - szintjeik pedig szignifikánsan magasabbak voltak ($p=0,021$; $p=0,001$), mint szezon után. A PNIF értékek csökkenése szezonban jelzi az orr átjárhatóságának romlását. A kontrollok PNIF értéke szezonális ingadozást nem mutatott. AR-es betegekben az IgE szintben bekövetkező szezonális változás jelzi az allergén hatására kialakuló fokozott immunválaszt. A TNF- α szint szezonális ingadozása jelzi az AR pathomechanizmusában betöltött szerepét.

A betegek sTNFR1 és sFas szintjei tekintetében nem találtam szignifikáns különbséget a szezonban mért és a szezon utáni értékek között ($p=0,930$; $p=0,128$).

A sFasL szintjét szignifikánsan magasabbnak találtam pollenszezonban, mint szezon után ($p=0,040$).

- Szignifikáns negatív lineáris korreláció volt megfigyelhető a PNIF és a sTNF α , valamint a PNIF és a sTNFR1 szintje között pollenszezonban és szezon után is.
- A PNIF- értékek és az IgE- koncentrációk között pollenszezonban és a szezon után egyaránt szignifikáns negatív lineáris korrelációt találtam. A pollenszezonban mért sTNF- α - és sTNFR1- szintek az IgE- szintjével pozitívan korreláltak, szezon után ez az összefüggés már nem mutatkozott.
- A TNF- α -238 pozíciójú promoter polimorfizmusa mutáns alléljének gyakorisága nagyobb volt az AR-ben szenvedő betegek csoportjában a referens egyénekhez képest, a -308 promoter polimorfizmus mutáns allélja pedig ritkábban fordult elő, mint a referens csoportban. A klinikai tünetek és a citokin szintek alakulásában szignifikáns különbség mutatkozott mindkét promoter polimorfizmus mutáns alléljeinek hordozása esetén.

- A TLR-4 Asp299Gly és Thr399Ile allélpolimorfizmusainak előfordulási gyakorisága 6,1%-os volt az AR-es betegcsoportban és 5,6%-os a referens csoportban. A két polimorfizmus minden esetben kapcsolatosan fordul elő, linkage disequilibriumban vannak. A mutáns allélt hordozó betegekben a sTNF- α és az IgE szintek szignifikánsan alacsonyabbak, a PNIF értékek pedig szignifikánsan magasabbak voltak, mint a vad típust hordozókban. A különbségek a pollenszezonban és a szezon után mért értékekben egyaránt megfigyelhetők. A sTNFR1, sFas és sFasL szintekben ilyen különbség nem volt detektálható.
- A TLR-4 mutáns alléljait hordozó betegekben a sTNF- α és az IgE szintek alacsonyabbak, a PNIF értékek pedig magasabbak.
- Az rs 1801282 mutáns allél (PPAR- γ Pro12Ala), rs 3856806 (exon6 C/T) és rs 4253778 (PPAR- α intron7 G/C) megoszlása nem különbözött statisztikailag szignifikánsan a betegek és a magyar kontrollszemélyek között. Az allélpolimorfizmusok gyakorisága hasonló az európai illetve kaukázusi populációban végzett mérések eredményeihez.
- A mutáns PPAR alléleket hordozók klinikai tüneti score-ja mind allergiaszezonban, mind szezon után 50%-kal alacsonyabb.
- A PPAR- γ Ala alléljét hordozók PNIF értékei mind szezonban, mind szezon után szignifikánsan magasabbak, mint a Pro allélt hordozóké.
- A PPAR- γ és a PPAR- α allél polimorfizmusai befolyásolják az allergiás rhinitisben szenvedő betegek klinikai tüneteinek súlyosságát, a betegek TNF- α és IgE szintjének alakulását.

6. Következtetések

Hasznos és fontos az eredmények helyes értékeléséhez azok összevetése a szakirodalomban fellelhető adatokkal illetve olyan alapkutatói tények feltárása, melyek az egyes általam is azonosított összefüggések háttérében állhatnak, illetve magyarázhatják azokat.

6.1. Szezonálisan változó és szezontól független paraméterek

Eredményeim szerint a TNF- α és a FasL pollenszezonban mért szintje AR-es betegekben szignifikánsan magasabb volt, mint szezon után. A TNF receptor és a Fas szintekben statisztikailag jelentős szezonális változást nem mértem.

6.1.1. TNF- α , TNFR1

Számos vizsgálat talált már bizonyítékot arra, hogy a TNF- α proinflammatorikus hatása révén, központi szerepet játszik az AB és az AR kialakulásában.

A TNF- α -t kódoló gén expressziójában gátolt, KO (knocked out) egerek vizsgálata alapján úgy gondolják, hogy a TNF- α hiánya megakadályozza az AR kialakulását. [224]

A TNF- α emelkedett szintjét észlelték a légutakban, a bronchoalveolaris mosófolyadékban (BAL, bronchoalveolar lavage) és az orrból nyert mosófolyadékban AB-ban, valamint AR-ben szenvedő betegekben. Kimutatták, hogy AB-ban szenvedő betegek BAL folyadékából izolált leukocytaiból és monocytáiból szignifikánsan több TNF- α szabadul fel, mint a kontroll páciensek sejtjeiből. [225]

Összehasonlítva egészséges, AR-es és AB-s páciensek mucosájának endobronchiális biopsziás mintáit, Brown és mtsai rhinitises betegekben az eosinophil sejtek és mastocyták számának, valamint TNF- α expressziójának az emelkedését találták az egészségesekéhez képest. Az emelkedés mértéke nem érte el az AB-ban szenvedő betegek értékeit. [226] Ez a megfigyelés is alátámasztja azt a hipotézist, mely szerint az

AR és az AB az atópiás megbetegedések között mintegy folytonosságot képeznek, az AR hajlamosító tényező lehet az AB kialakulásában.

AR-es betegek és egészségesek szérumának és orrváladékának TNFR1 szintjét különböző pollenkoncentrációjú időszakokban vizsgálva, Kato és mtsai arra az eredményre jutottak, hogy a sTNFR1 szintje az orrváladékban bármely időszakban szignifikánsan magasabb AR-es betegekben a kontrollcsoportéhoz képest. Rhinitises betegekben a sTNFR1 szintje a pollenkoncentrációtól függően változik és negatívan korrelál a tünetek kialakulásával. Mindezek alapján feltételezik, hogy a sTNFR1 inkább antiallergiás faktorként vesz részt a folyamatban. [227]

2007-ben végzett vizsgálataimba 30 beteg és 10 egészséges személyt vontunk be a Semmelweis Egyetem Fül- Orr- Gégészeti és Fej- Nyaksebészeti Klinikáján. A vizsgálati alanyok szérumparamétereinek elemzése során a sTNFR1 szintjében statisztikailag jelentős szezonális ingadozást nem tudtunk igazolni és nem találtam különbséget a betegek és a kontroll páciensek szérumszintje között sem. A sTNF- α szintjében a rhinitises és a referens csoport tagjai között szintén nem volt szignifikáns különbség. AR-es betegekben a szezon elmúltával a sTNF- α szintjében statisztikailag jelentős csökkenést tapasztaltunk, ellentétben a kontroll csoporttal. [228]

Később, nagyobb beteganyag bevonásával kapott eredményeim is alátámasztják a fenti megfigyeléseket.

A TNF- α -238 pozíciójú promoter polimorfizmusa mutáns alléljének gyakorisága nagyobb volt az AR-ben szenvedő betegek csoportjában a referens egyénekhez képest. Ilyen összefüggést korábban nem publikáltak. A -308 pozíciójú promoter polimorfizmus jelentőségével kapcsolatban számos közlés látott napvilágot az AB-val való kapcsolatáról. 15 közlemény metaanalízise azt mutatta, hogy 9 közlés az AB és mutáns allél között pozitív asszociációt, 5 publikáció a mutáns alléllal való negatív kapcsolatot, míg egy tanulmány a vad alléllal való pozitív összefüggést talált. [229]

Az általunk tanulmányozott AR-es betegcsoportban a -308 promoter polimorfizmus mutáns allélja ritkábban fordult elő, mint a referens csoportban. A klinikai tünetek és a citokin szintek alakulásában is szignifikáns különbség mutatkozott mint két promoter

polimorfizmus különböző alléljeinek hordozása esetén. Saját eredményeim is alátámasztják a TNF- α pathogenetikai szerepét AR-ben.

6.1.2. Fas, FasL

Kato és mtsai egy korábbi tanulmányukban úgy találták, hogy AR-es betegek sFas szintjei szignifikánsan alacsonyabbak az egészséges egyénénél, így arra következtettek, hogy a Fas által mediált apoptózis megváltozása fontos szerepet játszik a betegség kialakulásában. [230]

Mivel az AR és az AB lefolyása során az allergiás reakció sejtjei és molekulái hasonlóak és a két betegség klinikai manifesztációi is gyakran átfedik egymást, úgy gondolták, hogy a Fas/FasL rendszerben bekövetkező változás is nagyfokú hasonlóságot mutat a két betegségcsoport pathogenezisében. Egy későbbi tanulmányban azonban váratlan eredményt publikáltak: AR-es betegek sFas szintje pollenszezonban szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az egészségeseké és nem volt különbség a pollenszezonban és a szezonon kívül mért eredmények között. Ellentétben az AB-ban szenvedő betegekkel, akiknél a betegség akut fázisában szignifikánsan magasabb sFas szinteket észleltek, az egészséges egyének esetében és az akut fázisban alacsonyabb szérumszinteket mértek, mint a betegség nyugvó állapotában. Mindezek alapján arra a következtetésre jutottak, hogy az AR és az AB pathomechanizmusában a Fas mediálta apoptózist érintő lépésénél különbség feltételezhető a két betegség között. [231]

Pollenallergiás gyermekek szérumának sFas és sFasL szintjét Mezei és mtsai vizsgálták egy nemrég közzétett tanulmányban. [232] A pollenszezon alatt és a szezon után mért sFas szintekben nem találtak különbséget a parlagfű érzékeny csoportban. Ezzel ellentétben, a sFasL szintek szezonális változást mutattak, a sFasL szintje szignifikánsan magasabb volt a tünetek alatt, összehasonlítva a tünetmentes állapottal. Ez az eredmény egybehangzó az általam vizsgált felnőtt-populációban tapasztalható eredményekkel.

Az apoptózis fent említett paramétereiben különbséget találtak a csak rhinitises és az asthmával kombinált rhinitises csoportban. Azoknak a gyermekeknek, akiknek a rhinitisük asthmával kombinálódott, szignifikánsan magasabb antiapoptotikus sFas

szérumszintje volt tünetmentes állapotban, mint a csak rhinitises csoportba tartozó gyermekeknek. A tünetek csúcsán az asthmás és egyben rhinitises csoport betegeinek proapoptotikus sFasL szintjei szignifikánsan magasabbak voltak, mint a csak rhinitises csoportba tartozó gyermekekéi. Ebből arra következtettek, hogy az sFasL pollenszezon alatti emelkedett szintje jelzi a FasL szerepét az allergiás légúti betegségek pathogenezisében. Úgy gondolják, hogy a beteg gyermekek Fas által mediált apoptotikus reakciójában eltérés van az egészségesekéhez képest, ami súlyosbíthatja a szezonális allergiás gyulladást. [232]

Korábbi tanulmányunk során 30 AR-es és 10 kontroll személy szérum sFas és sFasL szintjét vizsgáltuk és hasonló eredményre jutottunk. A sFas szintek esetében sem pollenszezonban, sem azt követően nem találtam szignifikáns különbséget AR-es betegek és a kontroll csoport között. Ugyanakkor AR-es betegeknél szignifikáns csökkenést tapasztaltunk szezon után a szezonban mért értékekhez képest. Hasonló tendenciát figyeltünk meg a kontroll csoport eredményeiben is, a különbség azonban nem volt szignifikáns. Az AR-esek sFasL szintje egyik vizsgált időszakban sem különbözött statisztikailag a kontrollokétól. A sFasL szintek vizsgálatakor szignifikáns csökkenést tapasztaltunk AR-es betegek szezon utáni értékeiben a szezonban mérthez képest. Hasonló tendenciát tapasztaltunk a kontroll csoport eredményeiben is, ennek mértéke azonban a szignifikancia küszöbét nem érte el. [233]

Két másik publikáció is született a közelmúltban a témához kapcsolódóan, melyek bár nem tartoznak szorosan a tárgyhoz, érdekességük miatt röviden ismertetek.

Egy 2006-ban közzétett tanulmányban 60 krónikus rhinitises gyermek eltávolított orrmanduláját vizsgálták. A gyermekek egyik csoportja allergiás eredetű rhinitisben szenvedett, míg a másik csoportot olyan gyermekek alkották, akiknek szérumában specifikus IgE nem volt detektálható. Az allergiás csoportba tartozó gyermekek mandulájának T-sejtjein immunhisztokémiai vizsgálattal szignifikánsan nagyobb FasL expressziót találtak, mint a nem allergiás eredetű krónikus rhinitises gyermekeknél, a Fas antigén expressziójában viszont nem találtak különbséget a két betegcsoport között. Az allergiás gyermekek mandulájának sejtjein a Fas és FasL expresszió hasonló mértékű volt, míg a nem allergiásokén a Fas pozitív sejtek domináltak. [234]

A másik közlemény a specifikus immunterápia (SIT) és a Fas- rendszer kapcsolatára fókuszál. A SIT, másnéven deszenzitizálás, ma már széleskörűen elterjedt módszer az allergiás betegségek kezelésében. Régóta ismert, hogy a SIT az antigén-specifikus lymphoproliferáció csökkenését okozza, ismeretlen azonban, hogy pontosan milyen mechanizmussal eredményezi a T-sejtes válasz gátlását. A kutatás a SIT terápia rhinitises betegek szérumának sFas szintjére gyakorolt hatását tanulmányozta. A szérum sFas szintje nem különbözött szignifikánsan az AR-es betegek SIT-tel kezelt és nem kezelt csoportjában, amely arra enged következtetni, hogy nincs összefüggés a SIT hatásmechanizmusa és az AR-ben szenvedő betegek sFas szintje között, tehát a módszer valószínűleg nem a Fas által mediált apoptózis befolyásolásával eredményezi a lymphatikus sejtek számának csökkenését. [235]

6.2. TLR vizsgálatok

A TLR- vizsgálatok tekintetében a nemzetközi irodalommal való összevetés során érdekes megfigyelésekre bukkantam.

Schmitt és mtsai a TLR-4 Asp299Gly és Thr399Ile polimorfizmusait 116 egészséges kaukázusi rasszba tartozó német lakoson, kutatásainkhoz hasonlóan PCR- RFLP módszerrel vizsgálták. Az allélfrekvencia 5,6%-os volt a 299-es, és 6,0%-os a 399-es polimorfizmus esetében. Ezek az eredmények egybevágóak az általunk tanulmányozott betegpopuláció adataival (6,1% az AR-es illetve 5,6% a kontroll csoportban), bár saját vizsgálatunkban a két polimorfizmus minden esetben kapcsolatosan fordult elő. Ezután a különböző genotípusú donorok perifériás vérből vett, megfelelően előkezelt monocytákat in vitro körülmények között bakteriális termékekkel inkubálták és különböző proinflammatorikus citokinek (IL-1 β , IL-6, TNF- α) mRNS-ének mennyiségét mérték. A TLR-4 mutáns alléljait homozigóta formában hordozók monocytái a bakteriális LPS-re hyporeaktív választ adtak a vad típust hordozókhoz képest. A vizsgálat ellenőrzésére TLR-2 agonistákkal is elvégezték az inkubációt, az ily módon kezelt monocyták citokin-produkciójában nem volt eltérés a TLR-4 különböző genotípusait hordozókban. [236]

Szingapúri kínai populáción végzett vizsgálatok során a TLR-4 gén 299-es és 399-es pozíciójú polimorfizmusait vizsgálták. A vizsgálatban részt vett 66 atópiás, valamint 51 nem atópiás fenotípusú egyén, az összes vizsgált egyén közül egyikük sem hordozta két fent említett mutációt. [237] Az előzőekhez hasonlóan Japánban Okayama és mtsai 107 egészséges önkéntes személy és 168 különböző betegségben szenvedő beteg vizsgálata során, egyikükben sem tudták kimutatni a mutációt. [238] Egy koreai kutatás is a 299-es és 399-es polimorfizmusok előfordulásának teljes hiányáról számolt be egy 378 fős beteganyagban végzett vizsgálat alapján. [239] Számos egyéb ázsiai tanulmány szintén nem tudta igazolni a mutációk egyikét sem. Ennek alapján úgy gondolják, hogy vagy a TLR-4 más pozíciójú polimorfizmusai játszhatnak szerepet az atópiás fenotípus kialakításában, vagy az is lehetséges, hogy az allergiás betegségekre való hajlam genetikai háttere a különböző etnikai csoportokban eltérő lehet.

Egy nemrég közzétett, 115 svéd gyermekben végzett vizsgálat szerint a TLR-4 Asp299Gly polimorfizmus gyakorisága négyszeres volt asthmás gyermekekben és hétszeres a gyakorisága az atópiás asthmás gyermekekben, a gyermekpopuláció átlagához képest. AR-es gyermekeknél nem volt ilyen különbség detektálható. A vizsgált gyermekek 90%-ában homozigóta AA genotípus volt kimutatható, a fennmaradó 10%-uk AG heterozigótának bizonyult. A heterozigóta allélhordozás az asthma bronchiale tünetei előfordulásával társult. Ezekben az esetekben az asthma diagnózisa is gyakoribb volt, mint a vad típust hordozó AA genotípusúaknál. Az atópiás és nem atópiás asthmás gyermekeket külön vizsgálva, TLR-4 polimorfizmus csupán az atópiás asthmás gyermekeknél jelentkezett. A TLR-4 polimorfizmus nem volt megfigyelhető allergiás rhinoconjunctivitistól szenvedő, Prick-teszt pozitív gyermekekben. A bakteriális LPS által indukált IL-12 szekréció fokozódása gyakoribb volt az AA genotípusúak esetében, mint heterozigótákban és hasonló trend volt megfigyelhető az IL-10 esetében is. [240]

Egy közelmúltban végzett, európai gazdálkodók gyermekein történt genetikai vizsgálat a TLR-2 polimorfizmus előfordulásának és az allergiás megbetegedések gyakoriságának összefüggését elemezte. Úgy találták, hogy állattenyésztő telepeken élő gyermekek és felnőttek esetében alacsonyabb az asthma, a szénanátha és az IgE által közvetített

reakciók gyakorisága, mint az ettől távoli régiókban élőkénél. Mivel az állatfarmok közelében mikrobák sokfélesége detektálható, ez is alátámasztja azt a hipotézist, amely szerint a korai életévekben bekövetkező mikrobiális termékekkel való találkozás, az immunválasz módosítása révén csökkenti az asthma és az egyéb allergiás megbetegedések előfordulását. A tanulmány nemcsak a TLR-2, hanem a TLR-4 receptorokat is vizsgálta, amelyeket kódoló gének nagy variabilitást mutatnak az emberi populációban. Az állélgyakoriságban nem volt szignifikáns különbség az állatfarmokon és az azon kívül élők között. A farmerek gyermekeinél szoros kapcsolat volt megfigyelhető a TLR-2 polimorfizmusa és az egyedek fenotípusa között. A mutáns allélt hordozó gyermekekben szignifikánsan kevesebb AB-t diagnosztizáltak. Továbbá csökkent az asthmás és szénanáthás tünetek, valamint az atópiás fenotípus előfordulási gyakorisága. Nem farmon élők gyermekeinél ilyen összefüggést nem tapasztaltak. A TLR-4 polimorfizmus vizsgálatok esetében nem találtak statisztikailag szignifikáns összefüggést sem az AB-val, sem az egyéb atópiás megbetegedésekkel. A TLR-4 és TLR-2 gēnpolimorfizmusok együttes előfordulásában nem találtak szignifikáns összefüggést. [241]

Végeredményképpen megállapíthatjuk, hogy a TLR-4 gēn polimorfizmusa módosíthatja a gazdaszervezet mikrobiális ágensekre adott válaszreakcióját, hiszen a jelátviteli út módosulásának következtében változik a gēnexpresszió, csökkent lehet a sejtek által termelt citokinek, interleukinok szekréciója és így az atópiás betegség kifejlődése. Ez lehetőséget ad arra, hogy mikrobiális stimulus és különböző immunmodulátor molekulák használatával enyhítsük a betegség tüneteit. A pontos molekuláris háttér felderítése azonban nélkülözhetetlen ahhoz, hogy a megfelelő és a lehető leghatékonyabb módszerek kidolgozására sor kerülhessen.

Vizsgálataim újdonsága a TLR-4 299 és 399 allél polimorfizmusainak összefüggése az AR tüneteivel és a betegek citokin és IgE szintjeivel.

6.3. A PPAR vizsgálatok

A PPAR- α intron7 G/C polimorfizmusának, valamint a PPAR- γ Pro12Ala és exon6 C/T allélpolimorfizmusának összefüggését a klinikai tünetekkel, citokin- és IgE koncentrációkkal szezonális allergiás rhinitisben szenvedő betegekben idáig még nem vizsgálták.

Az rs 1801282 mutáns allél (PPAR- γ Pro12Ala), rs 3856806 (exon6 C/T) és rs 4253778 (PPAR- α intron7 G/C) megoszlása nem különbözött statisztikailag szignifikánsan a betegek és a kontrollszemélyek között. Az allélpolimorfizmusok gyakorisága hasonló az európai illetve kaukázusi populációban végzett mérések eredményeihez (PGA- UWFHCEC, AFFY, PARC, CSHL- HAPMAP adatbázisok). [53]

Szignifikáns pozitív lineáris korreláció mutatkozott az emelkedett sTNF- α , sFas, sFasL, IgE koncentrációk és a klinikai tünetei score értékek között, valamint negatív lineáris korreláció a betegek PNIF értékei között pollenszezonban és azt követően. A betegek PNIF értékeinek leginkább szignifikáns prediktorának a sTNF- α és sFasL érték bizonyult.

Szignifikánsan alacsonyabb klinikai score értékeket, citokin- és IgE szinteket és magasabb PNIF értéket találtam a PPAR- γ mutáns 12Ala allélját, és exon6 T allélját illetve a PPAR- α intron7 C allélját hordozó, allergiás rhinitisben szenvedő betegekben, a pollenszezonban és azt követően.

A három vizsgált polimorfizmus összefüggésben van a PPAR- γ és PPAR- α gének csökkent transzkripció aktivitásával. A PPAR- γ Pro12Ala misszenz polimorfizmusa nagyszámú célgén alacsonyabb transzkripció aktivitását eredményezi. [242] A PPAR- γ exon6 161 C/T polimorfizmusát kezdetben a coronariák betegségeinek csökkent rizikójával hozták összefüggésbe. Ez a PPAR- γ gén egy szinoním mutációja, amely nem eredményez aminosavcserét (H/H), habár ez egy exon splicing enhancer terület, amely magyarázza ezen polimorfizmusok jelentős hatását az atherogenezisre. [222]

A PPAR- α gén intron7 G/C polimorfizmusát az atherosclerosis fokozott progressziójával hozták összefüggésbe. Az rs 4253778 polimorfizmusról úgy tartják, csökkenti a PPAR- α gén expresszióját. [223]

A PPAR- γ (NR1C3) és PPAR- α (NR1C1) gyulladásgátló szerepét már többször felvetették. [243,244,245]

Ezek a ligandhoz kötődő magi receptorok transzrepresszió útján gátolják a gyulladási választ felelős géneket. A ligandhoz kötött PPAR- γ vagy PPAR- α fehérje-fehérje kölcsönhatása a magi receptor korepresszor komplexszel gátolja az NF-kappa-B p65-p50 heterodimerek kötődését a kappa-B elemhez és az AP-1 proteinekhez, ilyen módon gátolva a gyulladási citokinek expresszióját. [246] Vázizomsejtekben figyelték meg, hogy a ligandok által aktivált PPAR- γ szupprimálja az NF-kappa-B-függő gyulladásban szerepet játszó géneket, az intracelluláris adhéziós molekula-1 kemokin CXL-1-et, a TNF- α -t és az IL-1- β -t. [247] Hasonló megfigyelések születtek alveoláris macrophagokban [248] és eosinophil sejtekben is. [249] A PPAR- γ hypomorf 12A1a-, exon6 T valamint a PPAR- α intron7 C mutációja csökkentheti a magi receptorok gátló funkcióját, amely az NF-kappa-B és AP-1 fokozott aktivitásához vezetnek, és ez emelkedett IgE- és citokinszinteket eredményezve járul hozzá a szezonális allergiás rhinitis kialakulásához a betegekben.

Megfigyeléseink között újdonság, hogy a PPAR-gamma mutáns 12A1a és exon6 T allélja és a PPAR- α intron7 C allélja befolyásolja a klinikai tünetek súlyosságát, gyulladási citokin és IgE szinteket az allergiás rhinitisben szenvedő betegekben mind a pollenszezon alatt, mind azt követően. Mindebből arra következtethetünk, hogy a PPAR- γ és a PPAR- α magi receptorok polimorfizmusai valószínűleg hozzájárulnak az allergiás rhinitis betegek klinikai és immunológiai paramétereinek sokféleségéhez. A légutak gyulladási és reparációs folyamatainak irányítóiként a PPAR-ok szerepe is felmerül, mint a légúti betegségek kezelésének leendő célpontjai. [250]

6.4. Új terápiás lehetőségek

6.4.1. TNF- α antagonisták

TNF- α intranasális alkalmazását követően az α 2- makroglobulin, az ECP és az IL-8 szintjét szignifikánsan magasabbnak találták az orrból származó mosófolyadékban. Ez arra utal, hogy a TNF- α gyulladási reakciót indított el az orr nyálkahártyájában. [251] Noha a TNF- α elsősorban a Th1-mediált gyulladási reakciókban vesz részt, jelenléte a Th2- típusú citokinek termelődéséhez is szükséges. [252] Mivel a TNF- α az antigén specifikus IgE és a Th2 típusú citokin-termelésben fontos szerepet tölt be,

valószínűsíthető, hogy hiánya meggátolja az AR kialakulását. Ezáltal lehetőség nyílik arra, hogy TNF receptor inhibitorokkal megakadályozzuk az AR tüneteinek a kifejlődését. Egy 2007-ben publikált tanulmány arról számol be, hogy olyan EBV alapú plazmidot fejlesztettek ki, amely hordozza a szolubilis TNF receptor és az IgGFc fragmentjének génjét. Amikor a plazmidot laboratóriumi körülmények között humán endothel sejtekbe jutatták be, a TNF receptor és az IgGFc fúziós protein nagyfokú expresszióját detektálták. A fúziós termék antagonizálni tudta a TNF- α citolitikus hatását. Ezután, a plazmidot AR-es egerek orrnyálkahártyába juttatták, hogy állatkísérletesen is modellezzék a hatást. Az eredmények azt mutatták, hogy a plazmiddal kezelt csoport tünetei enyhültek a placebo csoportba tartozó egerek tüneteinek képest. Mindezek alapján úgy gondolják, hogy a felfedezés az AR-es betegek kezelésében új távlatokat nyithat, melyben a TNF- α antagonisták kiegészítő terápiás lehetőséget biztosíthatnak. [253]

6.4.2. TLR-4 agonisták- bakteriális LPS származékok

Újabban felmerült annak a lehetősége, hogy TLR ligandokkal befolyásolni lehetne az allergiás gyulladások folyamatát. Mivel jelentős különbségek vannak a TLR receptorok expressziójában a fajok között, humán vizsgálatok nélkülözhetetlenek a klinikai alkalmazásra szánt új terápiás szerek kifejlesztésében. Az epithelialis sejtek és a hízósejtek felszínén elhelyezkedő TLR receptorokon ható szerek jelenthetik az allergiás gyulladás befolyásolásának egy lehetséges módját. A hízósejtek receptorához kötődő TLR ligandok valószínűleg elősegítik a Th2 válaszhoz kapcsolódó citokin-felszabadulást. Mivel a toxikus tulajdonságokkal rendelkező LPS nem megfelelő klinikai alkalmazásra, így az LPS természetes és szintetikus, nem toxikus származékait fejlesztette ki a gyógyszeripar. Ezek elsősorban a már alkalmazott oltóanyagok hatását javító szerek. A monofoszforil lipid -A (MPL) a klinikailag használt TLR ligandok fő összetevője. Jelenleg az MPL természetes és szintetikus változatai további fejlesztés alatt állnak, főleg az allergiás tünetek fellángolásának profilaxisában fűznek hozzá reményeket. Létezik egy szezonális rhinitisben szenvedő betegek számára kifejlesztett subcutan beadható vakcina (SCIT, subcutan immunterápia), amely a leggyakrabban előforduló fűvek és fák pollenjeit tartalmazza. A vakcina MPL-lel kiegészített változata

(Pollenex® Quatra; Allergy Therapeutics, Worthing, Essex) hatékonynak bizonyult rhinitises betegek kezelésében. Az eddigi tapasztalatok alapján visszaszorítja az allergiás tüneteket és csökkenti a gyógyszerfogyasztást. Ez a vakcina legtöbbször jól tolerálható és in vitro körülmények között már bizonyított a hatékonysága: a specifikus IgE- szint és a szekretált Th1 és Th2 citokin szintek allergén stimulusra bekövetkező csökkenését okozza. Hatóanyagát tekintve hasonló, MPL-alapú sublingualis alkalmazású termék is kifejlesztés alatt áll (MPL-103; Allergy Therapeutics) (SLIT, sublingualis immunterápia). Az MPL analógok egy következő lehetséges alkalmazási módja, a TLR-4 ligandok intranasalis alkalmazása önmagában, antigének nélkül (CRX675, CRX527; GlaxoSmithKlein, Hamilton, MT, USA). Az immunterápia jelenleg rendelkezésre álló adatait figyelembe véve a sublingualis alkalmazási mód, a TLR-4 ligand monoterápiát és a TLR- alapú antiallergiás szert illetően egyaránt, további vizsgálatokat igényel. [144]

Bár a TLR ligandok izgalmas távlatokat nyitnak a legújabb immunterápiás gyógyszerek kifejlesztésében, fontos kérdések várnak még megválaszolásra, mielőtt a TLR alapú szerek rutin klinikai alkalmazássá válhatnának. Mivel a TLR ligandok a Th sejtes válasz módosításával autoimmun reakciókat is kiválthatnak, alkalmazásuk során kétélű kardként viselkedhetnek a szer dózistól, az adagolás idejétől és módjától függően. Klinikai adatok alapján úgy tűnik, hogy az AR kezelésének vonatkozásában megbízhatóak ezek a szerek, mégis szükséges a betegek pontos utánkövetéses vizsgálata, hogy a TLR ligandokat, mint a környezet mikrobáit helyettesítő szereket, biztonságosan használhassuk az allergiás rendellenességek kezelésében.

6.4.3. Biológiai terápia

A biológiai terápia (BT) elsősorban a citokinekkal, valamint az azokat gátló biológiai eredetű, fehérje természetű gyógyszerekkel történő kezelést jelenti. Napjainkban egyre nagyobb számban fejlesztenek, regisztrálnak ilyen típusú készítményeket.

- Vakcinakezelés: CYT-003QbG10

Vakcina rhinitis és asthma ellen. A készítményben Qb egység vírusszerű partikulum G10 DNS-szekvencia, amely bakteriális DNS-szekvenciát utánoz. A készítmény az

oltottakban Th1 típusú immunválszt indukál, ezáltal elnyomva az allergiásokra jellemző túlzott Th2 válaszkészséget. A II. fázisú vizsgálatok 2007-ben sikeresen zárultak, további, regisztrációt megelőző vizsgálatai folyamatban vannak.

○ Citokinterápia

A terápia nem újkeletű, a természetes INF α -kezelés bevezetése a daganatterápiába már több, mint 30 évre nyúlik vissza. A nagyon sokféle citokin közül az alábbiak terápiai alkalmazása tekinthető sikeresnek, vagy ígéretesnek.

1. Interferonok
2. Interleukinek
 - IL-4 és IL-13 jelenleg asthma bronchialében próbálják
 - IL-18 Crohn betegségben és rhinitis allergicában vizsgálják
3. Növekedési faktorok
4. Cítotoxikus és blokkoló antitestek

A kifejezetten allergiás betegségek kezelésére kifejlesztett és forgalmazott készítmény az *omalizumab* (Xolair); rekombináns DNS-ből származó humanizált IgE-ellenes antitest: az IgE-hez kötődve megakadályozza annak Fc ϵ R1 receptorokhoz való kötődését, ezáltal csökkentve a szabad IgE mennyiségét, és ezáltal a klinikai tüneteket.

5. Citokinantagonisták
 - *anakinra*: fiziológias IL-1 receptor antagonistá rekombináns változata, AR-ben használják sikerrel
 - *etanercept*: TNF α receptor fúziós protein, AR-ben és rokon kórképekben alkalmazzák, a TNF α blokád egyik legsikeresebb gyógyszere
 - *alefacept*: a T-sejtek és NK-sejtek CD2 antigénjéhez kötődik, valójában egy LFA-3, amely egy humán immunglobulin molekula Fc részéhez van kötve, gátolja a T-sejt aktivációt, a CD2-LFA-3 kapcsolódás gátlás révén
 - *abatacept*: a CD80-hoz, és CD86-hoz kötődő fúziós protein, a T-sejt aktivációt gátolja, AR-ben hasonló hatású, mint a TNF α gátló gyógyszer.
6. Nagy adagú intravénás immunglobulin
7. Génterápia

7. Összefoglalás

Munkám során allergiás rhinitisben szenvedő betegek adatainak feldolgozásával vizsgáltam, hogy a szérumban sTNF- α , sTNFR1, sFas, valamint sFasL szintek miként változnak pollenszezonban, illetve szezon után. Elemeztem, hogy a szérumszintek milyen összefüggésben állnak a nasalis belégzési csúcsáramlással és a szérumban IgE szintjével.

Eredményeim szerint **szezonálisan változó** paraméternek bizonyult a szolubilis **TNF- α** és a **FasL**, míg **szezonálisan nem változott** a szolubilis **TNF receptor-1** és a **Fas** szérumszintje. Negatív korreláció mutatkozott a PNIF és a sTNF- α , valamint az IgE értékek között.

A TNF- α -238 pozíciójú promotor polimorfizmusa mutáns alléljének gyakorisága nagyobb volt az AR-ben szenvedő betegeink csoportjában, a -308 promotor polimorfizmus mutáns allélja pedig ritkábban fordult elő, mint a referens csoportban. A klinikai tünetek és a citokin szintek alakulásában is szignifikáns különbség mutatkozott mindkét promotor polimorfizmus különböző alléljeinek hordozása esetén.

Az elmúlt évek immunológiai felfedezései a figyelmet a Toll- szerű receptorokra irányították. A **TLR-4 Asp299Gly és Thr399Ile** polimorfizmust hordozó betegeknél **TNF- α** és az **IgE** szintek **alacsonyabbak**, a **PNIF** értékek pedig **magasabbak** voltak. Eredményeim a nemzetközi közleményekkel egybehangzóan azt mutatják, hogy a TLR-4-nek szerepe van az AR pathogenezisében. A Toll- szerű receptoron ható szerek új lehetőséget jelenthetnek többek között allergiás rhinitisben szenvedő betegeknél is, mely a legígéretesebb új terápiás lehetőségek közé tartozhat.

A nukleáris receptorcsoportba tartozó PPAR- γ és α az NF- κ B transzkripciós faktor gátlásán keresztül csökkenti több citokin termelődését, és szerepe lehet az allergiás állapotok kialakulásában. A mutáns allél PPAR- γ Pro12Ala, exon6 C/T és PPAR- α intron7 G/C megoszlása nem különbözött statisztikailag szignifikánsan a betegek és a kontroll személyek között. A mutáns PPAR alléleket hordozók klinikai tüneti score-ja mind allergiaszezonban, mind szezon után alacsonyabb, PNIF értéke pedig mind szezonban, mind szezon után szignifikánsan magasabb. A PPAR rendszer polimorfizmusai befolyásolhatják az allergiás rhinitisben szenvedő betegek klinikai tüneteinek súlyosságát, a betegek TNF- α és IgE szintjének alakulását.

8. Summary

Work with patients with allergic rhinitis I have examined how serum sTNF- α , sTNFR1, sFAS, and sFasL levels are changing during and after pollen season.

I analyzed the relationship between serum levels, nasal inspiratory peak flow and serum IgE levels.

The results proved that soluble TNF- α and FasL were seasonally varying parameters, while soluble TNF receptor-1 and Fas serum levels showed no seasonal change. There was a negative correlation between the levels of PNIF and sTNF- α , and IgE values.

The frequency of the mutant allele of the TNF- α position -238 promoter's polymorphism was higher in the group of patients suffering from AR, while the mutant allele of the 308 promoter's polymorphism was less frequently than in the rapporteur (referens?) group. In terms of the clinical symptoms and the development of cytokine levels there were significant difference in the carrying of both promoter polymorphism alleles.

In recent years, immunological findings have directed attention to the Toll-like receptors. In patients carrying the TLR-4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms levels of the TNF- α and IgE were lower, while the levels of PNIF were higher. My results concurring with international publications have indicated that TLR-4 has a role in the pathogenesis of AR. Drugs active on the toll-like receptor may represent a new opportunity for treatment, including patients with allergic rhinitis, which could be one of the most promising new treatments.

The PPAR- γ and α of the nuclear receptor family through the inhibition of the NF- κ B transcription factor, reduce the production of several (tobb?) cytokines and may play a role in the development of allergic conditions. The mutant allele of PPAR- γ Pro12Ala, exon6 C / T and PPAR- α intron7 G / C distribution did not significantly differ statistically between patients and controls. The clinical symptom score of carriers of mutant PPAR alleles both during allergy season as well as after season were lower, while their PNIF value of during each season was significantly higher. The polymorphisms of PPAR system may influence the severity of clinical signs in patients with the allergic rhinitis, the development of TNF- α and IgE levels.

Irodalomjegyzék

1. Bauchau V, Durham SR. Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. *Eur Respir J.* 2004;24:758–64.
2. Czirják L. *Klinikai immunológia. Medicina, Budapest, 2006;502-25.*
3. Steinke JW, Borish L, Rosenwasser LJ. Genetics of hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:S495-501.
4. Haagerup A, Bjerke T, Schøitz PO, Binderup HG, Dahl R, Kruse TA. Allergic rhinitis - a total genome-scan for susceptibility genes suggests a locus on chromosome 4q24-q27. *Eur J Hum Gen.* 2001;9:945-52.
5. Yokouchi Y, Shibasaki M, Noguchi E, Nakayama J, Ohtsuki T, Kamioka M, Yamakawa-Kobayashi K, Ito S, Takeda K, Ichikawa K, Nukaga Y, Matsui A, Hamaguchi H, Arinami T. A genome-wide linkage analysis of orchard grass-sensitive childhood seasonal allergic rhinitis in Japanese families. *Genes Immun.* 2002;3:9-13.
6. Haagerup A, Børghlum AD, Binderup HG, Kruse TA. Fine-scale mapping of type I allergy candidate loci suggests central susceptibility genes on chromosomes 3q, 4q and Xp. *Allergy.* 2004;59:88-94.
7. Dizier MH, Bouzigon E, Guilloud-Bataille M, Genin E, Oryszczyn MP, Annesi-Maesano I, Demenais F. Genome screen in the French EGEA study: detection of linked regions shared or not shared by allergic rhinitis and asthma. *Genes Immun.* 2005;6:95-102.
8. Bu LM, Bradley M, Soderhall C, Wahlgren CF, Kockum I, Nordenskjold M. Genome-wide linkage analysis of allergic rhinoconjunctivitis in a Swedish population. *Clin Exp Allergy.* 2006;36:204-10.
9. Brasch-Andersen C, Haagerup A, Børghlum AD, Vestbo J, Kruse TA. Highly significant linkage to chromosome 3q13.31 for rhinitis and related allergic diseases. *J Med Genet.* 2006;43:e10.
10. Nakamura H, Higashikawa F, Nobukuni Y, Miyagawa K, Endo T, Imai T, Hatta K, Ozasa K, Motohashi Y, Matsuzaki I, Sasahara S, Ogino K, Akimaru K, Eboshida A. Genotypes and haplotypes of CCR2 and CCR3 genes in Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;142:329-34.

11. Zhang J, Noguchi E, Migita O, Yokouchi Y, Nakayama J, Shibasaki M, Arinami T. Association of a haplotype block spanning SDAD1 gene and CXC chemokine genes with allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:548-54.
12. Kim JJ, Lee JH, Jang CH, Kim YS, Chae SC, Chung HT, Choi TW, Lee JH. Chemokine RANTES promoter polymorphisms in allergic rhinitis. *Laryngoscope*. 2004;114:666-9.
13. Chae SC, Park YR, Oh GJ, Lee JH, Chung HT. The suggestive association of eotaxin-2 and eotaxin-3 gene polymorphisms in Korean population with allergic rhinitis. *Immunogenetics*. 2005;56:760-4.
14. Sebelova S, Izakovicova-Holla L, Stejskalova A, Schuller M, Znojil V, Vasku A. Interleukin-18 and its three gene polymorphisms relating to allergic rhinitis. *J Hum Genet*. 2007;52:152-8.
15. Chae SC, Park YR, Li CS, Lee JH, Yang YS, Zhang Q, Kim KS, Chung HT. Analysis of the variations in IL - 28RA gene and their association with allergic rhinitis. *Exp Mol Med*. 2006;38:302-9.
16. Lee HM, Park SA, Chung SW, Woo JS, Chae SW, Lee SH, Kang HJ, Hwang SJ. Interleukin-18/-607 gene polymorphism in allergic rhinitis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2006;70:1085-8.
17. Nieters A, Linseisen J, Becker N. Association of polymorphisms in h1, Th2 cytokine genes with hayfever and atopy in a subsample of EPIC-Heidelberg. *Clin Exp Allergy*. 2004;34:346-53.
18. Noguchi E, Yokouchi Y, Shibasaki M, Kamioka M, Yamakawa-Kobayashi K, Matsui A, Arinami T. Identification of missense mutation in the IL12B gene: lack of association between IL12B polymorphisms and asthma and allergic rhinitis in the Japanese population. *Genes Immun*. 2001;2:401-3.
19. Kabesch M, Tzotcheva I, Carr D, Hofler C, Weiland SK, Fitzsch C, Von Mutius E, Martinez, F.D.d. A complete screening of the IL4 gene: novel polymorphisms and their association with asthma and IgE in childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:893-8.
20. Isidoro-García M, Dávila I, Laffond E, Moreno E, Lorente F, González-Sarmiento R. Interleukin-4 (IL4) and interleukin-4 receptor (IL4RA) polymorphisms in asthma: a case control study. *Clin Mol Allergy*. 2005;3:15.

21. Kim JJ, Min JY, Lee JH. Polymorphisms in the IL-13 and IL-4 receptor alpha genes and allergic rhinitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2007;264:395-9.
22. Nakamura H, Miyagawa K, Ogino K, Endo T, Imai T, Ozasa K, Motohashi Y, Matsuzaki I, Sasahara S, Hatta K, Eboshida A. High contribution contrast between the genes of eosinophil peroxidase and IL-4 receptor alpha-chain in Japanese cedar pollinosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:1127-31.
23. Cheng L, Hirota T, Enomoto T, Tamari M, Akahoshi M, Matsuda A, Shimizu M, Takahashi N, Enomoto K, Yamasaki A, Mao XQ, Hopkin JM, Shirakawa T. Lack of association between the IL13 variant Arg110Gln and susceptibility to cedar pollinosis in a Japanese population. *Int Arch Allergy Immunol.* 2006;139:25-30.
24. Huebner M, Kim DY, Ewart S, Karmaus W, Sadeghnejad A, Arshad SH. Patterns of GATA3 and IL13 gene polymorphisms associated with childhood rhinitis and atopy in a birth cohort. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121:408-14.
25. Kim JJ, Kim HJ, Lee IK, Chung HT, Lee JH. Association between polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes and allergic rhinitis in a Korean population. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2004;113:297-302.
26. Ku MS, Lue KH, Li C, Sun HL, Chou MC. Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and childhood allergic rhinitis in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2006;39:297-301.
27. Lue KH, Ku MS, Li C, Sun HL, Lee HS, Chou MC. ACE gene polymorphism might disclose why some Taiwanese children with allergic rhinitis develop asthma symptoms but others do not. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006;17:508-13.
28. Nakamura H, Higashikawa F, Miyagawa K, Nobukuni, Y; Endo, T; Imai, T; Ozasa, K; Motohashi, Y; Matsuzaki, I; Sasahara, S; Hatta, K; Ogino, K; Eboshida, A. Association of single nucleotide polymorphisms in the eosinophil peroxidase gene with Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004;135:40-3.
29. Isidoro-García M, Dávila I, Moreno E, Lorente F, González- Sarmiento R. Analysis of the leukotriene C4 synthase A-444C promoter polymorphism in a Spanish population. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:206-7.
30. Eskandari HG, Unal M, Ozturk OG, Vayisoglu Y, Muslu N. Leukotriene C4 synthase A-444C gene polymorphism in patients with allergic rhinitis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006;134:997-1000.

31. de Arriba S, Sanz C, Isidoro-García M, Dávila I, Laffond E, Moreno E, Ávila C, Lorente F 927T>C polymorphism of the Cysteinylleukotriene type 1 receptor (CYSLTR1) gene in children with asthma and atopic dermatitis. *Ped Allergy Immunol.* 2006;17:323-8.
32. Zhang J, Migita O, Koga M, Shibasaki M, Arinami T, Noguchi E. Determination of structure and transcriptional regulation of CYSLTR1 and an association study with asthma and rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006;17:242-9.
33. Kang HJ, Choi YM, Chae SW, Woo JS, Hwang SJ, Lee HM. Polymorphism of the CD14 gene in perennial allergic rhinitis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006;70:2081-5.
34. Cheng L, Enomoto T, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Akahoshi M, Matsuda A, Dake Y, Doi S, Enomoto K, Yamasaki A, Fukuda S, Mao XQ, Hopkin JM, Tamari M, Shirakawa T. Polymorphisms in ADAM33 are associated with allergic rhinitis due to Japanese cedar pollen. *Clin Exp Allergy.* 2004;34:1192-1201.
35. Li CS, Chae SC, Lee JH, Zhang Q, Chung HT. Identification of single nucleotide polymorphisms in FOXJ1 and their association with allergic rhinitis. *J Hum Genet.* 2006;51:292-7.
36. Gulen F, Tanac R, Altinoz S, Berdeli A, Zeyrek D, Koksoy H, Demir E. The Fc gammaRIIa polymorphism in Turkish children with asthma bronchial and allergic rhinitis. *Clin Biochem.* 2007;40:392-6.
37. Garcia-Martin E, Garcia-Menaya J, Sanchez B, Martinez C, Rosendo R, Agundez JA. Polymorphisms of histamine-metabolizing enzymes and clinical manifestations of asthma and allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy.* 2007;37:1175-82.
38. I Dávila, J Mullol, M Ferrer, J Bartra, A del Cuvillo, J Montoro, I Jáuregui, J Sastre, A Valero. Genetic Aspects of Allergic Rhinitis. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2009;19:25-31.
39. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972;26:239-57.
40. Kopper L, Schaff Zs. *Patológia. Medicina, Budapest,* 2004;24-35.
41. Bruns P. Heilwirkung des Erysipels auf Geschwulste. *Beitr Klin Chir.* 1887;3:443-6.

42. Coley WB. Contribution to the knowledge of Sarcoma. *Ann Surg.* 1891;14:199-220.
43. Williams TW, Granger GA. Lymphocyte in vitro cytotoxicity: lymphotoxins of several mammalian species. *Nature.* 1968;219:1076-7.
44. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1975;72:3666-70.
45. Aggarwal BB, Moffat B, Harkins RN. Human lymphotoxin: production by a lymphoblastoid cell line, purification and initial characterization. *J Biol Chem.* 1984;259:686-91.
46. Gray P Aggarwal, B.B., Benton, C.V., Timothy S. Bringman, William J. Henzel*, Julie A. Jarrett, David W. Leung, Barbara Moffat*, Peter Ng, Lloyd P. Svedersky†, Michael A. Palladino† & Glenn E. Nedwin Cloning and expression of cDNA for human lymphotoxin, a lymphokine with tumor necrosis activity. *Nature.* 1984;312:721-4.
47. Pennica D Nedwin, GE, Hayflick, JS; Seeburg, PH; Derynck, R Palladino, MA; Kohr, WJ; Aggarwal, BB; Goeddel, DV Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature.* 1984;312:724-9.
48. Aggarwal BB Kohr, WJ Hass, PE Moffat, B Spencer, SA Henzel, WJ Bringman, TS; Nedwin, GE Goeddel, DV, Harkins, RN Human tumor necrosis factor: production, purification and characterization. *J Biol Chem.* 1985;260:2334-44.
49. Wiley SR Schooley, K; Smolak, PJ; Din, WS; Huang, CP; Nicholl, JK; Sutherland, GR; Smith, TD; Rauch, C; Smith, CA; Goodwin, RG Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity.* 1995;3:673-82.
50. Pitti RM Ashkenazi, A; Marsters, S; Ruppert, S; Donahue, C; Moore, A; Roberts, P Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Biol Chem.* 1996;271:12687-90.
51. Grell M Douni, E; Wajant, H; Lohden, M; Clauss, M; Maxeiner, B; Georgopoulos, S; Lesslauer, W; Kollias, G; Pfizenmaier, K; Scheurich, P The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell.* 1995;83:793-802.

52. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ.* 2003;10:45–65.
53. <http://www.genecards.org/tnf>
54. Liu ZG. Molecular mechanism of TNF signaling and beyond. *Cell Res.* 2005;15:24-7.
55. Karin M, Yamamoto Y, Wang QM. The IKK NF-kappa B system: a treasure trove for drug development. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3:17–26.
56. Lin A, Dibling B. The true face of JNK activation in apoptosis. *Aging Cell.* 2002;1:112–6.
57. Wang X. The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev.* 2001;15:2922–33.
58. Lin Y, Choksi S, Shen HM, Yang QF, Hur GM, Kim YS, Tran JH; Nedospasov SA; Liu, ZG Tumor necrosis factor-induced nonapoptotic cell death requires receptor-interacting protein-mediated cellular reactive oxygen species accumulation. *J Biol Chem.* 2004;279:10822–8.
59. Wang X, Lin Y. Tumor necrosis factor and cancer, buddies or foes? *Acta Pharmacol Sin.* 2008;29:1275–88.
60. Ferrajoli A, Keating MJ, Manshouri T, Giles FJ, Dey A, Estrov Z, Koller CA; Kurzrock, R; Thomas, DA; Faderl, S; Lerner, S; O'Brien, S; Albitar, M The clinical significance of tumor necrosis factor-alpha plasma level in patients having chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2002;100:1215–9.
61. Ahmed MI, Salahy EE, Fayed ST, El-Hefnawy NG, Khalifa A. Human papillomavirus infection among Egyptian females with cervical carcinoma: relationship to spontaneous apoptosis and TNFalpha. *Clin Biochem.* 2001;34:491–8.
62. Michalaki V, Syrigos K, Charles P, Waxman J. Serum levels of IL-6 and TNF-alpha correlate with clinicopathological features and patient survival in patients with prostate cancer. *Br J Cancer.* 2004;90:2312–6.
63. Nabors LB, Suswam E, Huang Y, Yang X, Johnson MJ, King PH. Tumor necrosis factor alpha induces angiogenic factor up-regulation in malignant glioma cells: a role for RNA stabilization and HuR. *Cancer Res.* 2003;63:4181–7.
64. Kulbe H, Thompson R, Wilson JL, Robinson S, Hagemann T, Fatah R, Gould D; Ayhan, A; Balkwill, F The inflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha generates

an autocrine tumor-promoting network in epithelial ovarian cancer cells. *Cancer Res.* 2007;67:585–92.

65. Swann JB, Vesely MD, Silva A, Sharkey J, Akira S, Schreiber RD Smyth, MJ Demonstration of inflammation-induced cancer and cancer immunoediting during primary tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:652–6.

66. Zhao X, Mohaupt M, Jiang J, Liu S, Li B, Qin Z. Tumor necrosis factor receptor 2-mediated tumor suppression is nitric oxide dependent and involves angiostasis. *Cancer Res.* 2007;67:4443–50.

67. Feinberg B Kurzrock, R., Talpaz, M., Blick, M., Saks, S., Gutterman, J.U. A phase I trial of intravenously-administered recombinant tumor necrosis factor- α in cancer patients. *J Clin Onco.* 1997;6:1328-34.

68. Wielockx B Lannoy, K; Shapiro, SD; Itoh, T; Itohara, S; Vandekerckhove, J; Libert, C Inhibition of matrix metalloproteases blocks lethal hepatitis and apoptosis induced by tumor necrosis factor and allows safe antitumor therapy. *Nature Med.* 2001;7:1202-8.

69. Grunhagen DJ, de Wilt JH, ten Hagen TL, Eggermont AM. Technology insight: Utility of TNF-alpha-based isolated limb perfusion to avoid amputation of irresectable tumors of the extremities. *Nat Clin Pract Oncol.* 2006;3:94–103.

70. Cao W, Chi WH, Wang J, Tang JJ, Lu YJ. TNF-alpha promotes Doxorubicin-induced cell apoptosis and anti-cancer effect through downregulation of p21 in p53-deficient tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;330:1034–40.

71. Calabrese L. The yin and yang of tumor necrosis factor. *Clev Clin J Med.* 2006;73:251–6.

72. Calabrese L. Molecular differences in anticytokine therapies. *Clin Exp Rheumatol.* 2003;21:241–8.

73. Smolen JS, Han C, Bala M Maini, RN; Kalden, JR; van der Heijde, D; Breedveld, FC; Furst, DE; Lipsky, PE The ATTRACT Study Group. Evidence of radiographic benefit of treatment with infliximab plus methotrexate in rheumatoid arthritis patients who had no clinical improvement: a detailed subanalysis of data from the anti-tumor necrosis factor trial in rheumatoid arthritis with concomitant therapy study. *Arthritis Rheum.* 2005;52:1020–30.

74. Van Dullemen HM, van Deventer SJ, Hommes DW Hannie A. Bijl, Jaap Jansen, Guido N.J. Tytgat, James Woody Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology*. 2005;109:129–35.
75. Weinberg JM, Bottino CJ, Lindholm J, Buchholz R. Biologic therapy for psoriasis: an update on the tumor necrosis factor inhibitors infliximab, etanercept, and adalimumab, and the T-cell-targeted therapies efalizumab and alefacept. *J Drugs Dermatol*. 2005;4:544–55.
76. Flynn JL, Goldstein MM, Chan J Triebold, K.J., Pfeffer, K., Lowenstein, C.J., Schreiber, R., Mak, T.W., Bloom, B.R. Tumor necrosis factor-alpha is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Immunity*. 1995;2:561–72.
77. Mohan VP, Scanga CA, Yu K Scott, HM; Tanaka, KE; Tsang, E; Tsai, MC; Flynn, JL; Chan, J; Effects of tumor necrosis factor alpha on host immune response in chronic persistent tuberculosis: possible role for limiting pathology. *Infect Immun*. 2001;69:1847–55.
78. Slifman NR, Gershon SK, Lee JH, Edwards ET, Braun MM. *Listeria monocytogenes* infection as a complication of treatment with tumor necrosis factor alpha-neutralizing agents. *Arthritis Rheum*. 2003;48:319–24.
79. Lee JH, Slifman NR, Gershon SK Edwards, E.T., Schwieterman, W.D., Siegel, J.N., Wise, R.P., Brown, S.L., Udall Jr., J.N., Braun, M.M. Life-threatening histoplasmosis complicating immunotherapy with tumor necrosis factor alpha antagonists infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum*. 2002;46:2565–70.
80. Hotamisligil GS Murray, D.L., Choy, L.N., Spiegelman, B.M. Free in PMC tumor necrosis factor- α inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:4854-8.
81. Uysal KT Wiesbrock, S.M., Marino, M.W., Hotamisligil, G.S. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature*. 1997;389:610-4.
82. Bolger AP, Anker SD. Tumor necrosis factor in chronic heart failure: a peripheral view on pathogenesis, clinical manifestations and therapeutic implications. *Drugs*. 2000;60:1245-57.

83. Diwan A Diwan, A., Tran, T., Misra, A., Mann, D.L. Inflammatory mediators and the failing heart: a translational approach. *Curr Mol Med.* 2003;3:161-82.
84. McDermott MF Ivona Aksentijevich; Jérôme Galon; Elizabeth M McDermott; B.William Ogunkolade; Michael Centola; Elizabeth Mansfield; Massimo Gadina; Leena Karenko; Tom Pettersson; John McCarthy; David M Frucht; Martin Aringer; Yelizaveta Torosyan; Anna-Maija Teppo; Meredith Wilson; H.Mehmet Karaarslan; Ying Wan; Ian Todd; Geryl Wood; Ryan Schlimgen; Thisum R Kumarajeewa; Sheldon M Cooper; John P Vella; Christopher I Amos; John Mulley; Kathleen A Quane; Michael G Molloy; Annamari Ranki; Richard J Powell; Graham A Hitman; John J O'Shea; Daniel L Kastner Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell.* 1999;97:133-44.
85. Aganna E Aksentijevich, I., Hitman, G.A., Kastner, D.L., Hoepelman, A.I.M., Posma, F.D., Zweers, E.J.K., McDermott, M.F. Tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TAPS) in a Dutch famil: evidence for a TNFRSF1A mutation with reduced penetrance. *Eur J Hum Genet.* 2001;9:63-6.
86. Itoh N, Yonehara S, Ishii A Yonehara, M., Mizushima, S.-I., Sameshima, M., Hase, A., Seto, Y., Nagata, S. The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell.* 1991,66:233-43.
87. Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the FasL, a novel memberof the tumor necrosis factor family. *Cell.* 1993;75:1169.
88. www.genecards.com/fas
89. Watanabe-Fukunaga R, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Nagata S. Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. *Nature.* 1992;356:314-7.
90. Takahashi T, Tanaka M, Brannan CI, Jenkins NA, Copeland NG, Suda T, Nagata S. Generalized lymphoproliferative disease in mice, caused by a point mutation in the FasL. *Cell.* 1994,76:969-76.
91. Fisher GH, Rosenberg FJ, Straus SE, Dale JK, Middleton LA, Lin AY, Strober W, Lenardo MJ, Puck JM. Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell.* 1995;81:935-46.

92. Rieux-Laucat F, Le Deist F, Hivroz C, Roberts IAG, Debatin KM, Fischer A, de Villartay JP. Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity. *Science*. 1995;268:1347–9.
93. Straus SE, Jaffe ES, Puck JM, Dale JK, Elkon KB, Rosen-Wolff A, Peters AM, Sneller MC, Hallahan CW, Wang J Roxanne E. Fischer, Christine M. Jackson, Albert Y. Lin, Caroline Bäuml, Elke Siegert, Alexander Marx, Akshay K. Vaishnav, Tamara Grodzicky, Thomas A. Fleisher, Michael J. Lenardo The development of lymphomas in families with autoimmune lymphoproliferative syndrome with germline Fas mutations and defective lymphocyte apoptosis. *Blood*. 2001;98:194–200.
94. Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH, Peter ME. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95) -associated proteins form a death-inducing signaling complex (Dros. Inf. Serv.C) with the receptor. *EMBO J*. 1995;14:5579–88.
95. Boldin MP, Varfolomeev EE, Pancer Z, Mett IL, Camonis JH, Wallach D. A novel protein that interacts with the death domain of Fas/ APO1 contains a sequence motif related to the death domain. *J Biol Chem*. 1995;270,7795–8.
96. Boldin MP, Goncharov TM, Goltsev YV, Wallach D. Involvement of MACH, a novel MORT1/FADD-interacting protease, in Fas/APO-1- and TNF receptor-induced cell death. *Cell*. 1996;85:803–15.
97. Muzio M, Chinnaiyan AM, Kischkel FC, O'Rourke K, Shevchenko A, Ni J, Scaffidi C, Bretz JD, Zhang M, Gentz R Mann, M. , Krammer, P.H. , Peter, M.E. , Dixit, V.M. FLICE, a novel FADD homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to the CD95 (Fas/Apo-1) death-inducing signaling complex. *Cell*. 1996;85:817–27.
98. Boatright KM, Renatus M, Scott FL, Sperandio S, Shin H, Pedersen IM, Ricci JE, Edris WA, Sutherlin DP, Green DR, Salvesen GS. A unified model for apical caspase activation. *Mol Cell*. 2003;11:529–41.
99. Li H, Zhu H, Xu JC, Yuan J. Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell*. 1998;94:491–501.
100. Luo X, Budlhardjo I, Zou H, Slaughter C, Wang X. Bid, a Bcl-2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell*. 1998;94:481–90.

101. Huang DCS, Strasser A. BH3-only proteins-essential initiators of apoptotic cell death. *Cell*. 2000;103:839–42.
102. Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science* 2004;305:626–9.
103. Youle RJ, Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9:47–59.
104. Yin XM, Wang K, Gross A, Zhao Y, Zinkel S, Klocke B, Roth KA, Korsmeyer SJ. Bid-deficient mice are resistant to Fas-induced hepatocellular apoptosis. *Nature*. 1999;400:886–91.
105. Kaufmann T, Tai L, Ekert PG, Huang DC, Norris F, Lindeman RK, Johnstone RW, Dixit VM, Strasser A. The BH3-only protein Bid is dispensable for DNA damage- and replicative stress-induced apoptosis or cell-cycle arrest. *Cell*. 2007;129:423–33.
106. Strasser A, Jost PJ, Nagata S. The Many Roles of FAS Receptor Signaling in the Immune System. *Immunity*. 2009;30:180-92.
107. Tanaka M, Suda T, Takahashi T, Nagata S. Expression of the functional soluble form of human FasL in activated lymphocytes. *EMBO J*. 1995;14:1129–35.
108. Tanaka M, Itai T, Adachi M, Nagata S. Downregulation of FasL by shedding. *Nat Med*. 1998;4:31–6.
109. Kägi D, Vignau F, Ledermann B, Bürki K, Depraetere V, Nagata S, Hengartner H, Golstein P. Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science*. 1994;265:528–30.
110. Hattori K, Hirano T, Miyajima H, Yamakawa N, Tateno M, Oshimi K, Kayagaki N, Yagita H, Okumura K. Differential effects of anti- FasL and anti-tumor necrosis factor alpha antibodies on acute graft-versus-host disease pathologies. *Blood*. 1998;91:4051–5.
111. Watanabe D, Suda T, Hashimoto H, Nagata S. Constitutive activation of the FasL gene in mouse lymphoproliferative disorders. *EMBO J*. 1995;14:12–8.
112. Chervonsky AV, Wang Y, Wong FS, Visintin I, Flavell RA, Janeway CA, Matis LA. The role of Fas in autoimmune diabetes. *Cell*. 1997;89:17–24.
113. Bellgrau D, Gold D, Selawry H, Moore J, Franzusoff A, Duke RC. A role for CD95 ligand in preventing graft rejection. *Nature*. 1995;377:630–2.

114. O'Connell J, Bennett MW, O'Sullivan GC, Collins JK, Shanahan F. Fas counter-attack—the best form of tumor defense? *Nature Med.* 1999;5:267–8.
115. Restifo NP. Not so fas: re-evaluating the mechanisms of immune privilege and tumor escape. *Nat Med.* 2000;6:493–5.
116. Krammer PH. CD95's deadly mission in the immune system. *Nature.* 2000;407:789–95.
117. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell.* 1997;88:355–65.
118. Bouillet P, Purton JF, Godfrey DI, Zhang LC, Coultas L, Puthalakath H, Pellegrini M, Cory S, Adams JM, Strasser A. BH3-only Bcl-2 family member Bim is required for apoptosis of autoreactive thymocytes. *Nature.* 2002;415:922–6.
119. Sprent J, Tough DF. T cell death and memory. *Science.* 2001;293:245–8.
120. O'Connor L, Strasser A, O'Reilly LA, Hausmann G, Adams JM, Cory S, Huang DCS. Bim: a novel member of the Bcl-2 family that promotes apoptosis. *EMBO J.* 1998;17:384–95.
121. Hildeman DA, Zhu Y, Mitchell TC, Bouillet P, Strasser A, Kappler J, Marrack P. Activated T cell death in vivo mediated by proapoptotic Bcl-2 family member bim. *Immunity.* 2002;16:759–67.
122. Hughes PD, Belz GT, Fortner K, Budd RC, Strasser A, Bouillet P. Apoptosis regulators Fas and Bim cooperate in shutdown of chronic immune responses and prevention of autoimmunity. *Immunity.* 2008;28:197–205.
123. Hutcheson J, Scatizzi JC, Siddiqui AM, Haines GK, Wu T, Li QZ, Davis LS, Mohan C, Perlman H. Combined deficiency of proapoptotic regulators Bim and Fas results in the early onset of systemic autoimmunity. *Immunity.* 2008;28:206–17.
124. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichart JM, Hoffmann JA. The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell.* 1996;86:973–83.
125. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the *Drosophila* toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature.* 1997;388:394–7.
126. Smirnova J, Hamblin MT, McBride C, Beutler B, Di Rienzo A. Excess of race acid polymorphisms in the Toll-like receptor 4 in humans. *Genetics.* 2001;158:1657–64.

127. Raby BA, Klimecki WT, Laprise C Renaud, Y; Faith, J; Lemire, M; Greenwood, C; Weiland, KM; Lange, C; Palmer, LJ; Lazarus, R; Vercelli, D; Kwiatkowski, DJ; Silverman, EK; Martinez, FD; Hudson, TJ; Weiss, ST Polymorphisms in Toll- like receptor 4 are not associated with asthma or atopy related phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:1449-56.
128. Qureshi ST, Lariviere L, Leveque G Clermont, S; Moore, KJ; Gros, P; Malo, D Endotoxin- tolerant mice have mutations in Toll- like receptor 4 (Tlr4). *J Exp Med.* 1999;189:615-25.
129. Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T Sanjo, H; Ogawa, T; Takeda, Y; Takeda, K; Akira, S Cutting edge: Toll- like receptor 4 (Tlr4)- deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol.* 1999;162:3749-52.
130. Parker LC, Prince LR, Sabore I. Translational Mini- Review Series on Toll- like Receptors: Networks regulated by Toll- like receptors mediate innate and adaptive immunity. *Clin Exp Immunol.* 2007;147:199-207.
131. Takeda K, Akira S. TLR signaling pathways. *Seminars in Immunology.* 2004;16:3–9.
132. Franchimont D, Vermeire S, Housni HE Pierik, M; Van Steen, K; Gustot, T; Quertinmont, E; Abramowicz, M; Van Gossum, A; Deviere, J; Rutgeerts, P Deficient host-bacteria interactions in inflammatory bowel disease? The Toll-like receptor (TLR)- 4 Asp299Gly polymorphism is associated with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut.* 2004;53: 987–92.
133. Sabore I, Whyte MKB, Wilson AG Dower, SK; Hubbard, R; Hall, I Toll-like receptor (TLR) 4 polymorphisms and COPD. *Thorax.* 2004;59:81.
134. Földes G. Toll receptorok a szív és érrendszerben. *Orvosképzés* 2007;82:115-23.
135. Sridevi Devaraj, Mohan R. Dasu, Jason Rockwood Winter, W; Griffen, SC; Jialal, I Increased Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 expression in monocytes from patients with type 1 diabetes: further evidence of a proinflammatory state. *J Clin Endocrinol Metabol.* 2008;93:578-83.
136. Granucci F, Zanoni I. Role of Toll like receptor-activated dendritic cells in the development of autoimmunity. *Front Biosci.* 2008;13:4817-26.

137. Tulic MK, Wale JL, Holt PG, Sly PD. Modification of the inflammatory response to allergen challenge after exposure to bacterial lipopolysaccharide. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000;22:604-12.
138. Eisenbarth SC, Piggott DA, Huleatt JW, Wisintin I, Herrick CA, Bottomly K. Lipopolysaccharide- enhanced, Toll- like receptor 4- dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J Exp Med.* 2002;196:1645-51.
139. Michel O, Ginanni R, Le Bon B, Content J, Duchateau J, Sergysels R. Inflammatory response to acute inhalation of endotoxin in asthmatic patients. *Am Rev Respir Dis.* 1992;146:352-7.
140. Ng N, Lam D, Paulus P, Batzer G, Horner AA. House dust extracts have both TH2 adjuvant and tolerogenic activities. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:1074- 81.
141. Hollingsworth JW, Whitehead GS, Lin KL Nakano, H; Gunn, MD; Schwartz, DA; Cook, DN TLR 4 signaling attenuates ongoing allergic inflammation. *J Immunol.* 2006;176:5856-62.
142. Wang Y, McCusker C, Neonatal exposure with LPS and/or allergen prevents experimental allergic airways disease: development of tolerance using environmental antigens. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118:143-51.
143. Tulic MK, Fiset PO, Manoukian JJ Frenkiel, S; Lavigne, F; Eidelman, DH; Hamid, QRole of Toll- like receptor-4 in protection by bacterial lipopolysaccharide in the nasal mucosa of atopic children but not adults. *Lancet.* 2004;363:1689-97.
144. Goldman M. Translational Mini- Review Series on Toll- like Receptors: Toll- like receptor ligands as novel pharmaceuticals for allergic disorders. *Clin Exp Immunol.* 2007;147:208-16.
145. Belfiore A, Genua M, Malaguarnera R. PPAR-gamma Agonists and Their Effects on IGF-I Receptor Signaling: Implications for Cancer. *PPAR Res.* 2009; 830501.
146. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Ann Rev Med.* 2002;53:409–35.
147. Michalik L, Wahli W. Involvement of PPAR nuclear receptors in tissue injury and wound repair. *J Clin Invest.* 2006;116:598–606.
148. Hess R, Staubli W, Riess W. Nature of the hepatomegalic effect produced by ethyl-chlorophenoxy-isobutyrate in the rat. *Nature.* 1965; 208:856–58.

149. Meirhaeghe A, Amouyel P. Impact of genetic variation of PPAR γ in humans. *Mol Genet Metab.* 2004;83:93–102.
150. Brown JD, Plutzky J. Peroxisome Proliferator–Activated Receptors as Transcriptional Nodal Points and Therapeutic Targets. *Circulation.* 2007;115:518–33.
151. Issemann I, Prince RA, Tugwood JD, Green S. The retinoid X receptor enhances the function of the peroxisome proliferator activated receptor. *Biochimie.* 1993;75:251–6.
152. Shulman AI, Mangelsdorf DJ. Retinoid X receptor heterodimers in the metabolic syndrome. *N Engl J Med.* 2005;353:604–15.
153. Mizukami J, Taniguchi T. The antidiabetic agent thiazolidinedione stimulates the interaction between PPAR γ and CBP. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;240:61–4.
154. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell.* 1998;92:829–39.
155. Zhu Y, Kan L, Qi C, Kanwar YS, Yeldandi AV, Rao MS, Reddy JK. Isolation and characterization of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) interacting protein (PRIP) as a coactivator for PPAR. *J Biol Chem.* 2000;275:13510–6.
156. Jia Y, Guo GL, Surapureddi S, Sarkar J, Qi C, Guo D, Xia J, Kashireddi P, Yu S, Cho YW, Rao MS, Kemper B, Ge K, Gonzalez FJ, Reddy JK. Transcription coactivator peroxisome proliferator-activated receptorbinding protein/mediator 1 deficiency abrogates acetaminophen hepatotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:12531–6.
157. Chen J, Kinyamu HK, Archer TK. Changes in attitude, changes in latitude: nuclear receptors remodeling chromatin to regulate transcription. *Mol Endocrinol.* 2006;20:1–13.
158. Rosenfeld MG, Lunyak VV, Glass CK. Sensors and signals: a coactivator/corepressor/epigenetic code for integrating signal-dependent programs of transcriptional response. *Genes Dev.* 2006;20:1405–28.
159. Reginato MJ, Krakow SL, Bailey ST, Lazar MA. Prostaglandins promote and block adipogenesis through opposing effects on peroxisome proliferator-activated receptor γ . *J Biol Chem.* 1998;273:1855–8.

160. Marx N, Bourcier T, Sukhova GK, Libby P, Plutzky J. PPARgamma activation in human endothelial cells increases plasminogen activator inhibitor type-1 expression: PPARgamma as a potential mediator in vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:546–51.
161. Willson TM, Brown PJ, Sternbach DD, Henke BR. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery. *J Med Chem.* 2000;43:527–50.
162. Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Willson TM, Kliewer SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *J Biol Chem.* 1995;270:12953–6.
163. Lehrke M, Lazar MA. The many faces of PPARgamma. *Cell.* 2005;123:993–9.
164. Forman BM, Chen J, Evans RM. Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors alpha and delta. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:4312–7.
165. Staels B, Fruchart JC. Therapeutic roles of peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Diabetes.* 2005;54:2460–70.
166. Kliewer SA, Sundseth SS, Jones SA, Brown PJ, Wisely GB, Koble CS, Devchand P, Wahli W, Willson TM, Lenhard JM, Lehmann JM. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:4318–23.
167. Keller H, Dreyer C, Medin J, Mahfoudi A, Ozato K, Wahli W. Fatty acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90:2160–4.
168. Gottlicher M, Widmark E, Li Q, Gustafsson JA. Fatty acids activate a chimera of the clofibric acid-activated receptor and the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992;89:4653–7.
169. Ziouzenkova O, Perrey S, Asatryan L, Hwang J, MacNaul KL, Moller DE, Rader DJ, Sevanian A, Zechner R, Hoefler G, Plutzky J. Lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins generates PPAR ligands: evidence for an antiinflammatory role for lipoprotein lipase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:2730–5.

170. Chawla A, Lee CH, Barak Y, He W, Rosenfeld J, Liao D, Han J, Kang H, Evans RM. PPARdelta is a very low-density lipoprotein sensor in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:1268–73.
171. Ziouzenkova O, Asatryan L, Sahady D, Orasanu G, Perrey S, Cutak B, Hassell T, Akiyama TE, Berger JP, Sevanian A, Plutzky J. Dual roles for lipolysis and oxidation in peroxisome proliferation-activator receptor responses to electronegative low density lipoprotein. *J Biol Chem*. 2003;278:39874–81.
172. Ahmed W, Orasanu G, Nehra V, Asatryan L, Rader DJ, Ziouzenkova O, Plutzky J. High-density lipoprotein hydrolysis by endothelial lipase activates PPARalpha: a candidate mechanism for high-density lipoprotein-mediated repression of leukocyte adhesion. *Circ Res*. 2006;98:490–8.
173. Forman BM, Tontonoz P, Chen J, Brun RP, Spiegelman BM, Evans RM. 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell*. 1995;83:803–12.
174. Delerive P, Furman C, Teissier E, Fruchart J, Duriez P, Staels B. Oxidized phospholipids activate PPARalpha in a phospholipase A2-dependent manner. *FEBS Lett*. 2000;471:34–8.
175. Devchand PR, Keller H, Peters JM, Vazquez M, Gonzalez FJ, Wahli W. The PPARalpha-leukotriene B4 pathway to inflammation control. *Nature*. 1996;384:39–43.
176. McIntyre TM, Pontsler AV, Silva AR, St Hilaire A, Xu Y, Hinshaw JC, Zimmerman GA, Hama K, Aoki J, Arai H, Prestwich GD. Identification of an intracellular receptor for lysophosphatidic acid (LPA): LPA is a transcellular PPARgamma agonist. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:131–6.
177. Rossi A, Kapahi P, Natoli G, Takahashi T, Chen Y, Karin M, Santoro MG. Anti-inflammatory cyclopentenone prostaglandins are direct inhibitors of IkkappaB kinase. *Nature*. 2000;403:103–8.
178. Marx N, Duez H, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res*. 2004;94:1168–78.
179. <http://www.sabiosciences.com>
180. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*. 1990;347:645–50.

181. Berger JP, Akiyama TE, Meinke PT. PPARs: therapeutic targets for metabolic disease. *Trends Pharmacol Sci.* 2005;26:244–51.
182. Evans RM, Barish GD, Wang YX. PPARs and the complex journey to obesity. *Nat Med.* 2004;10:355–61.
183. Frederiksen KS, Wulff EM, Sauerberg P, Mogensen JP, Jeppesen L, Fleckner J. Prediction of PPAR-alpha ligand-mediated physiological changes using gene expression profiles. *J Lipid Res.* 2004;45:592–601.
184. Haubenwallner S, Essenburg AD, Barnett BC, Pape ME, DeMattos RB, Krause BR, Minton LL, Auerbach BJ, Newton RS, Leff T, Bisgaier, C.L. Hypolipidemic activity of select fibrates correlates to changes in hepatic apolipoprotein C-III expression: a potential physiologic basis for their mode of action. *J Lipid Res.* 1995;36:2541–51.
185. Duez H, Lefebvre B, Poulain P, Torra IP, Percevault F, Luc G, Peters JM, Gonzalez FJ, Gineste R, Helleboid S, Dzavik V, Fruchart JC, Fievet C, Lefebvre P, Staels B. Regulation of human apoA-I by gemfibrozil and fenofibrate through selective peroxisome proliferator-activated receptor alpha modulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:585–91.
186. Schultze AE, Alborn WE, Newton RK, Konrad RJ. Administration of a PPARalpha agonist increases serum apolipoprotein A-V levels and the apolipoprotein A-V/apolipoprotein C-III ratio. *J Lipid Res.* 2005;46:1591–5.
187. Kersten S, Seydoux J, Peters JM, Gonzalez FJ, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting. *J Clin Invest.* 1999;103:1489–98.
188. Lee SS, Pineau T, Drago J, Lee EJ, Owens JW, Kroetz DL, Fernandez-Salguero PM, Westphal H, Gonzalez FJ. Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator-activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. *Mol Cell Biol.* 1995;15:3012–22.
189. Chaput E, Saladin R, Silvestre M, Edgar AD. Fenofibrate and rosiglitazone lower serum triglycerides with opposing effects on body weight. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;271:445–50.

190. Jeong S, Kim M, Han M, Lee H, Ahn J, Song YH, Shin C, Nam KH, Kim TW, Oh GT, Yoon M. Fenofibrate prevents obesity and hypertriglyceridemia in low-density lipoprotein receptor-null mice. *Metabolism*. 2004;53:607–813.
191. Muls E, Van Gaal L, Autier P, Vansant G. Effects of initial BMI and on-treatment weight change on the lipid-lowering efficacy of fibrates. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997;21:155–8.
192. Finck BN, Bernal-Mizrachi C, Han DH, Coleman T, Sambandam N, LaRiviere LL, Holloszy JO, Semenkovich CF, Kelly DP. A potential link between muscle peroxisome proliferator-activated receptor- α signaling and obesity-related diabetes. *Cell Metab*. 2005;1:133–44.
193. Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J. PPAR α activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation*. 1999;99:3125–31.
194. Jackson SM, Parhami F, Xi XP, Berliner JA, Hsueh WA, Law RE, Demer LL. Peroxisome proliferator-activated receptor activators target human endothelial cells to inhibit leukocyte-endothelial cell interaction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:2094–104.
195. Sethi S, Ziouzenkova O, Ni H, Wagner DD, Plutzky J, Mayadas TN. Oxidized omega-3 fatty acids in fish oil inhibit leukocyte-endothelial interactions through activation of PPAR α . *Blood*. 2002;100:1340–6.
196. Inoue I, Goto S, Matsunaga T, Nakajima T, Awata T, Hokari S, Komoda T, Katayama S. The ligands/activators for peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) and PPAR γ increase Cu²⁺, Zn²⁺ -superoxide dismutase and decrease p22phox message expressions in primary endothelial cells. *Metabolism*. 2001;50:3–11.
197. Teissier E, Nohara A, Chinetti G, Paumelle R, Cariou B, Fruchart JC, Brandes RP, Shah A, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor α induces NADPH oxidase activity in macrophages, leading to the generation of LDL with PPAR- α activation properties. *Circ Res*. 2004;95:1174–82.
198. Devchand PR, Ziouzenkova O, Plutzky J. Oxidative stress and peroxisome proliferator-activated receptors: reversing the curse? *Circ Res*. 2004;95:1137–9.

199. Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Sorting out the roles of PPAR alpha in energy metabolism and vascular homeostasis. *J Clin Invest.* 2006;116:571–80.
200. Delerive P, Gervois P, Fruchart JC, Staels B. Induction of IkappaBalpha expression as a mechanism contributing to the anti-inflammatory activities of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activators. *J Biol Chem.* 2000;275:36703–7.
201. Delerive P, De Bosscher K, Vanden Berghe W, Fruchart JC, Haegeman G, Staels B. DNA binding-independent induction of IkappaBalpha gene transcription by PPARalpha. *Mol Endocrinol.* 2002;16:1029–39.
202. Dreyer C, Krey G, Keller H. Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell.* 1992;68:879-87.
203. Tontonoz P, Graves RA, Budavari AI, Erdjument-Bromage H, Lui M, Hu E, Tempst P, Spiegelman BM. Adipocyte-specific transcription factor ARF6 is a heterodimeric complex of two nuclear hormone receptors, PPAR gamma and RXR alpha. *Nucleic Acids Res.* 1994;22:5628–34.
204. Chawla A, Schwarz EJ, Dimaculangan DD, Lazar MA. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma: adipose-predominant expression and induction early in adipocyte differentiation. *Endocrinology.* 1994;135:798–800.
205. Semple RK, Chatterjee VK, O’Rahilly S. PPAR gamma and human metabolic disease. *J Clin Invest.* 2006;116:581–9.
206. Garg A. Acquired and inherited lipodystrophies. *N Engl J Med.* 2004;350:1220–34.
207. Spiegelman BM, Hu E, Kim JB, Brun R. PPAR gamma and the control of adipogenesis. *Biochimie.* 1997;79:111–2.
208. Blaschke F, Takata Y, Caglayan E, Law RE, Hsueh WA. Obesity, peroxisome proliferator-activated receptor, and atherosclerosis in type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:28–40.
209. Pasceri V, Wu HD, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of vascular inflammation in vitro and in vivo by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activators. *Circulation.* 2000;101:235–8.
210. Marx N, Mach F, Sauty A, Leung JH, Sarafi MN, Ransohoff RM, Libby P, Plutzky J, Luster AD. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activators

inhibit IFN-gamma-induced expression of the T cell-active CXC chemokines IP-10, Mig, and I-TAC in human endothelial cells. *J Immunol.* 2000;164:6503–8.

211. Su CG, Wen X, Bailey ST, Jiang W, Rangwala SM, Keilbaugh SA, Flanigan A, Murthy S, Lazar MA, Wu GD. A novel therapy for colitis utilizing PPAR-gamma ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. *J Clin Invest.* 1999;104:383–9.

212. Lewis JD, Lichtenstein GR, Stein RB, Deren JJ, Judge TA, Fogt F, Furth EE, Demissie EJ, Hurd LB, Su CG, Keilbaugh SA, Lazar MA, Wu GD. An open-label trial of the PPAR-gamma ligand rosiglitazone for active ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 2001;96:3323–8.

213. Schaefer KL, Denevich S, Ma C, Cooley SR, Nakajima A, Wada K, Schlezinger J, Sherr D, Saubermann LJ. Intestinal antiinflammatory effects of thiazolidenedione peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands on T helper type 1 chemokine regulation include nontranscriptional control mechanisms. *Inflamm Bowel Dis.* 2005;11:244–52.

214. Matsuura H, Adachi H, Smart RC, Xu X, Arata J, Jetten AM. Correlation between expression of peroxisome proliferator-activated receptor beta and squamous differentiation in epidermal and tracheobronchial epithelial cells. *Mol Cell Endocrinol.* 1999;147:85–92.

215. Vosper H, Patel L, Graham TL, Khoudoli GA, Hill A, Macphee CH, Pinto I, Smith SA, Suckling KE, Wolf CR, Palmer CN. The peroxisome proliferator-activated receptor delta promotes lipid accumulation in human macrophages. *J Biol Chem.* 2001;276:44258–65.

216. Li AC, Binder CJ, Gutierrez A, Brown KK, Plotkin CR, Pattison JW, Valledor AF, Davis RA, Willson TM, Witztum JL, Palinski W, Glass CK. Differential inhibition of macrophage foam-cell formation and atherosclerosis in mice by PPARalpha, beta/delta, and gamma. *J Clin Invest.* 2004;114:1564–76.

217. <http://www.menzl.com>

218. <http://www.clementclarke.com>

219. Müller A, Stellermann K, Hartmann P, Schrappe M, Fätkenheuer G, Salzberger B, Diehl V, Franzen C. A Powerful DNA Extraction Method and PCR for Detection of Microsporidia in Clinical Stool Specimens. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6:243–6.

220. Day CP, Grove J, Daly AK, Stewart MW, Avwry PJ, Walker M. Tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism and decreased insulin resistance. *Diabetologia*. 1998;41:430-4.
221. Chuang LM, Hsiung CA, Chen YDI, Ho LT, Sheu WHH, Pei D, Nakatsuka, CH; Cox, D; Pratt, RE; Lei, HH; Tai, TY (Tai, TY) Sibling-based association study of the PPAR γ 2 Pro12Ala polymorphism and metabolic variables in Chinese and Japanese hypertension families: a SAPPHERE study. *J Mol Med*. 2001;79:656-64.
222. Wang XL, Oosterhof J, Duarte N. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma C161T polymorphism and coronary artery disease. *Cardiovasc Res*. 1999;44:588-94.
223. Flavell DM, Jamshidi Y, Hawe E, Torra IT, Taskinen M-R, Fritz H, Nieminen MS, Kessaniemi A, Pasternack A, Staels B, Miller G, Humphries SE, Talmud PJ, Syvanne M. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene variants influence progression of coronary atherosclerosis and risk of coronary artery disease. *Circulation*. 2002;5:1440-5.
224. Iwasaki M, Saito K, Takemura M. TNF- α contributes to the development of allergic rhinitis in mice. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:134-40.
225. Grzelewska-Rzymowska I, Pietrkowicz M. Role of tumor necrosis factor- α in allergic inflammation and airway hyperresponsiveness. *Pol Merkur Lekarski*. 2004;16:173-8.
226. Brown JL, Behndig AF, Sekerel BE, Pourazar J, Blomberg A, Kelly FJ, Sandström T, Frew AJ, Wilson SJ. Lower airways inflammation in allergic rhinitis: a comparison with asthmatics and normal controls. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:688-95.
227. Kato M, Kato Y, Takeuchi K. Local levels of soluble tumor necrosis factors in patients with allergic rhinitis are regulated by amount of antigen. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2000;126:997-1000.
228. Krasznai M, Kraxner H, Vargha E, Mezei Gy, Cserháti E, Kozma G, Gergely P, Répássy G. Szolubilis TNF-R1 és TNF- α vizsgálata allergiás rhinitisben pollenszezonban és tünetmentes időszakban. *Fül- Orr- Gégegyógyászat*. 2008;54:27-31.
229. Gao J, Shan G, Sun B, Thompson PJ, Gao X. Association between polymorphism of tumor necrosis factor alpha -308 gene promoter and asthma: a meta-analysis. *Thorax*. 2006;61:466-71.

230. Kato M, Hattori T, Ito H, Kageyama M (Kageyama, M); Yamashita, T (Yamashita, T); Nitta, Y (Nitta, Y); Nakashima, I (Nakashima, I) Serum- soluble Fas levels as a marker to distinguish allergic and nonallergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:1213-4.
231. Kato M, Nozaki Y, Yoshimoto T, Tamada Y, Kageyama M, Yamashita T, Kurimoto F, Nakashima I. Different serum soluble Fas levels in patients with allergic rhinitis and bronchial asthma. *Allergy.* 1999;54:1299-302.
232. Mezei Gy, Lévy M, Sepler Z, Héninger E, Kozma GT, Cserhádi E. Seasonal changes of proapoptotic soluble Fas ligand level in allergic rhinitis combined with asthma. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006;17:444-9.
233. Krasznai M, Kraxner H, Mezei Gy, Cserhádi E, Kozma G, Gergely P, Répássy G Solubilis Fas és solubilis Fas- ligand szérum szintjének vizsgálata rhinitis allergiában szenvedő felnőtt betegekben. *Fül- Orr- Gégegyógyászat.* 2007;53:4-8.
234. Zakrzewska A, Gryczynska D, Kobos J, Górski P. Expression of Fas Ligand and CTLA-4 in adenoids has a predictive value for allergic rhinitis development in children. *Int Arch Allergy Immunol.* 2006;140:223-30.
235. Knikli G, Ates A, Turgay M, Aydoğan N, Tokgöz G. Serum-soluble Fas antigen level in patients with allergic rhinitis: its relation to specific immunotherapy. *Allergy Asthma Proc.* 2006;27:145-7.
236. Schmitt C, Humeny A, Becker CN, Brune K, Pachtl A. Polymorphisms of TLR4: rapid genotyping and reduced response to lipopolysaccharide of TLR4 mutant alleles. *Clin Chem.* 2002;48:1661-7.
237. Liang XH, Cheung W, Heng CK, Wang DY. Absence of the Toll-like receptor 4 gene polymorphisms Asp299Gly and Thr399Ile in Singaporean Chinese. *Ther Clin Risk Manag.* 2005;1:243-6.
238. Okayama N, Fulimura K, Suehiro Y, Hamanaka, Y; Fujiwara, M; Matsubara, T; Maekawa, T; Hazama, S; Oka, M; Nohara, H; Kayano, K; Okita, K; Hinoda, Y Simple genotype analysis of the Asp299Gly polymorphism of the toll- like receptor 4 gene that is associated with lipopolysaccharide hyporesponsiveness. *J Clin Lab Anal.* 2002;16:56-8.

239. Kim YS, Hwang YJ, Kim SY, Yang SM Lee, KY; Park, IB Rarity of TLR-4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms in Korean population. *Yonsei Med J.* 2008;49:58-62.
240. Böttcher MF, Hmani-Aifa M, Lindström A, Jenmalm MC Mai, XM; Nilsson, L; Zdolsek, HA; Bjorksten, B; Soderkvist, P; Vaarala, O A TLR-4 polymorphism is associated with asthma and reduced lipopolysaccharid induced interleuckin-12 (p70) responses in Swedish children. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114:561-7.
241. Eder W, Klimecki W, Yu L von Mutius, E; Riedler, J; Braun-Fahrlander, C; Nowak, D; Martinez, FD Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:482-8.
242. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamaki, J; Mykkanen, L; Kuusisto, J; Laakso, M; Fujimoto, W; Auwerx, J A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet.* 1998;20:284-7.
243. Strauss DS, Glas CK. Anti-inflammatory actions of PPAR ligands: new insights on cellular and molecular mechanisms. *Trends Immunol.* 2007;28:551-8.
244. Shah YM, Morimura K, Gonzalez FJ. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor- gamma in macrophages supresses experimentally induced colitis. *Am J Physiol.* 2007;292:657-66.
245. Kobayashi M, Thomassen MJ, Rambasek T, Bonfield, TL; Raychaudhuri, B; Malur, A; Winkler, AR; Barna, BP; Goldman, SJ; Kavuru, MS An inverse relationship between peroxisome proliferator- activated receptor gamma and allergic airway inflammation in an allergen challenge model. *Ann Allegrgy Asthma Immunol.* 2005;95:468-73.
246. Pascual G, Fong AL, Ogawa S, Gamliel, A; Li, AC; Perissi, V; Rose, DW; Willson, TM; Rosenfeld, MG; Glass, CK A SUMOylation- dependent pathway mediates transrepression of inflammatory response genes by PPAR- gamma. *Nature* 2005;437:759-63.
247. Remels AH, Langen RC, Gosker HR, Russell, AP; Spaapen, F; Voncken, JW; Schrauwen, P; Schols, AMWJ PPAR gamma inhibits NF kappa B dependent transcriptional activation in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009;297:174-83.

248. Asada K, Sasaki S, Suda T, Chida, K; Nakamura, H PPAR Antiinflammatory roles of peroxisome proliferator- activated receptor gamma in human alveolar macrophages. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169:195-200.
249. Ueki S, Matsuwaki Y, Kayaba H, Oyamada A, Kanda, A; Usami, A; Saito, N; Chihara, J Peroxisome proliferator- activated receptor gamma regulates eosinophil functions: a new therapeutic target for allergic airway inflammation. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004;134:30-6.
250. Belvisi MG, Hele DJ. Peroxisome proliferators- activated receptor as novel targets in lung disease. *Chest.* 2008;134:152-7.
251. Widegren H, Korsgren M, Andersson M. Effects of TNF α on the human nasal mucosa in vivo. *Resp Med.* 2007;101:1982-7.
252. Thomas PS. Tumor necrosis factor alpha: the role of this multifunctional cytokine in asthma. *Immunol Cell Biol.* 2001;79:132-40.
253. He J, Wang T, Yao L, Chen A, Zhou, B.b , Yu, H.a , Jia, R.a , Cheng, C.a , Huan, L.a , Zhang, Z.a Construction and delivery of gene therapy vector containing soluble TNF alpha receptor- IgGFc fusion gene for the treatment of allergic rhinitis. *Cytokine.* 2007;36:296-304.

Saját publikációk jegyzék

1. Hirschberg A., **Krasznai M.**, Ribári O. Loderix tableta klinikai alkalmazásának eredményei chronicus rhinitisben. Gyógyszereink 1989; 39: 146-148.
2. Hirschberg A., **Krasznai M.**, Ribári O. Results of the Loderix in chron rhinitis' patients. Therapia Hungarica 1989; 37: 202-204.
3. **Krasznai M.**, Ribári O., Rózsa I. Vasomotoros rhinitis kezelése cryotherápiával Fül-orr-gégegyógyászat 1989; 35, 235-238.
4. **Krasznai M.**, Hirschberg A. Környezeti ártalmak és a légzőszervi allergiás betegségek fül-orr-gégészeti vonatkozásai. Környezeti Ártalmak és a légzőrendszer konferencia, Tatabánya, 1990; 107-113.
5. Hirschberg A., **Krasznai M.**, Ribári O. Rhinaaxia orrspray alkalmazása allergiás rhinitisben EGIS doc. (1990)
6. **Krasznai M.** Recidiváló Streptococcus pharyngitis c. cikk kommentárja Orvostovábbképző Szemle 1996; 3:5, 93-94.
7. **Hirschberg A.**, Krasznai M. Jelentés a Tinset tableta klinikai próbájáról OGYI dokumentáció EGIS (1998)
8. Farkas H. és a Multicentrikus munkacsoport Hirschberg A., **Krasznai M.** és munkatsai. Desloratadin hatékonyságának és tolerálhatóságának multicentrikus vizsgálata szezonális allergiás rhinitisben. Klinikai tanulmányok. Orv Hetil 2003; 144: 21. 1021-1024.
9. Donath J., **Krasznai M.**, Fornet B., Poor Gy. Paget,s disease of the temporal bone: treated the patients with bisphosphonate Rheumatology 2004; 43: 89-94.
10. Kraxner H., **Krasznai M.** Az allergiás rhinitis Háziiorvos Továbbképző Szemle 2006; 11:801-808.
11. **Krasznai M.**, Kraxner H., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G. Solubilis Fas és solubilis Fas-ligand szérumszintjének vizsgálata rhinitis allergiában szenvedő felnőtt betegekben Fül-Orr-Gégegyógyászat 2007; 53:4-8.

12. **Krasznai M.**, Kraxner H., Varga E., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G. Szolubilis TNF-R1 és TNF- α vizsgálata allergiás rhinitisben pollenszezonban és tünetmentes időszakban Fül-Orr-Gégegyógyászat 2008; 54:1.p.27-31.
13. **Krasznai M.**, Barna I. Miért kell orrcsepp expediálásakor a magasvérnyomás-betegséget tisztázni? Gyógyszerész Továbbképzés 2009; 3: 26-27.
14. **Krasznai M.**, Szaniszló K., Kraxner H., Répássy G. Akut felső légúti hurut, nátha gyógyítása. Gyógyszerész Továbbképzés 2010; 4:146-148.
15. **Krasznai M.**, Jegyzet expediálói szakasszisztens-képzéshez. Felső légúti megbetegedések Kiadó: Vajas Katalin Litográfia Nyomda, Debrecen 2010;107-126.
16. **Krasznai M.**, Szaniszló K, Kraxner H, Vargha E, Kovacs M, Borocz Z, Kaszas E, Mezei Gy, Cserhati E, Cseh K. Association of TLR-4 and TNF-alpha polymorphisms with clinical symptoms and cytokine levels in patients with allergic rhinitis Eur Arch Otorhinolaryngol 2011; 268:561-567.
17. Fekésházy O OH, Keresztesi Gáborné OH, Révész M, **Krasznai M**, Kraxner H, Kovács T, Szaniszló K, Répássy G. Szubjektív szaglásvizsgálati módszerek Fül-orr-gégegyógyászat, 2011; 57: 31-37.
18. **Krasznai M.**, Szaniszló K, .Kraxner H, Vargha E., Kovacs M., Kaszas E., Mezei Gy., Cserhati E., Borocz Z., Cseh K. Association of PPAR polymorphisms with cytokine levels in allergic rhinitis Eur Arch Otorhinolaryngol
Doi: 10.1007/S00405-011-1710Z
19. **Krasznai M.** Allergiás rhinitis Orvostovábbképző Szemle 2011;18:37-47.
20. Keresztesi Gáborné OH, Fekésházy O OH, Révész M., **Krasznai M.**, Kraxner H, Kovács T, Szaniszló K., Répássy G. Tudnivalók az ízérzésről Fül- orr-gégegyógyászat – megjelenés alatt

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni a Semmelweis Egyetem Foglalkozás- és Környezet-egészségügyi Tanszék intézetvezetőjének Prof. Dr. Cseh Károly egyetemi tanárnak munkám során nyújtott mérhetetlen nagy segítségét, ösztönzését, és a genetikai vizsgálatok elvégzését, értékelését.

Továbbá szeretném megköszönni támogatását tudományos munkám programvezetőjének, Prof. Dr. Lakatos Péter egyetemi tanárnak (SE I.sz. Belgyógyászati Klinika).

Ezúton szeretném kifejezni hálámat a Semmelweis Egyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika intézetvezető professzorának Prof. Dr. Répássy Gábor egyetemi tanárnak, hogy lehetőséget adott tudományos munkám elvégzéséhez.

Köszönetemet szeretném kifejezni az I. sz. Gyermekklinika munkatársainak, Prof. Dr. Cserhádi Endre egyetemi tanárnak és Dr. Mezei Györgyi egyetemi adjunktusnak célkitűzéseim és munkatervem megtervezésében nyújtott segítségükért.

Köszönettel tartozom a Semmelweis Egyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika valamennyi dolgozójának, külön köszönöm Dr. Kraxner Helga egyetemi adjunktusnak, Dr. Szaniszló Kinga és Dr. Révész Mónika rezidenseknek valamint Fekésházy Olívia VI. éves orvostanhallgatónak.