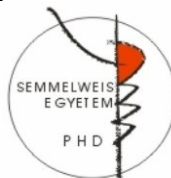


A gyermekkori asztma és allergia genetikai háttérének vizsgálata

Doktori tézis

Készné Fodor Lili Erika

Semmelweis Egyetem
Molekuláris orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:
Prof. Dr. Szalai Csaba

Hivatalos bírálók: Vellainé Dr. Takács Krisztina
Dr. Menyhárt Otília

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Lakatos Péter

Szigorlati bizottság tagjai: Prof. Dr. Sasvári Mária
Dr. Pikó Henriett

Budapest
2017

1. Bevezetés

Az asztma egy krónikus gyulladásoz légúti megbetegedés, amelyet mind környezeti, mind pedig genetikai tényezők befolyásolhatnak. A betegségre jellemző légúti akadályt a sima izom összehúzódások és a légúti gyulladás okozza. Ennek következtében az asztma tünetei közé sorolhatjuk a köhögést, zihálást, a szorító érzést a mellkasban, a hörgőszűkületet és a légúti hiperreaktivitást, amely spontán vagy kezelésre enyhülhet.

Jól ismert, hogy az asztma pathomechanizmusának egyik főbb jellemzője az apoptózis. A sejtek apoptózisának és túlélésének egyensúlyát a különböző szabályozó elemek és útvonalak ellátása teszi lehetővé. A BIRC5 (Baculoviral IAP repeat containing 5) fehérje, másnéven survivin, egy fontos antiapoptotikus tagja az IAP (inhibitor of apoptosis) fehérjecsaldnak. Kiderült, hogy a BIRC5 további szerepet játszik gyulladásoz folyamatokban és megbetegedésekben, mint például az asztmában. Ezen kívül kutatócsopordunk további bizonyítékokat talált a BIRC5 asztmában betöltött szerepére. Továbbá a a kutatásaink korábbi eredményei azt mutatják, hogy az *FRMD6* (FERM-domain containing 6) génexpressziósz szintje szignifikánsan csökken mind az ovalbimun indukált asztmás egér modellben, mind pedig az asztmás betegekben a kontrollokhoz képest. Az *FRMD6* a Hippo jelátviteli útvonal upstream aktiváló molekulája, amely több fehérje expresszióját is szabályozza köztük a BIRC5 expresszióját is. A Hippo útvonal a *Drosophila melanogaster*-től az emlősökig konzervált útvonal, amely a szervek méretét szabályozza embrionális korban a sejtek apoptózisának elősegítésével, és a sejt proliferáció gátlásával. Az embrionális szövetek mellett, ahol a YAP1 fontos szerepet tölt be például a tüdő fejlődésében és a posztnatális légutak homeosztázisában, a fehérje szintén kifejeződik a kezdetleges és az érett tüdő légúti epitél sejtjeiben is, ahol ezen sejtek proliferációját és differenciációját a Hippo/YAP1 útvonal irányítja.

Olyan folyamatok, mint például a citokin termelődés, a gyulladásoz sejtek tüdőszövetbe való infiltrációja, az epitél sejtek sérülése vagy az apoptózis fontos

szerepet töltenek be az asztma kialakulásában és annak súlyosságában. A légúti falakban a neovaszkularizáció és az angiogenezis hatására bekövetkező strukturális változások szintén szerepet játszanak az asztmában. A Tie2 receptor az angiogenezis egy fontos szereplője. A *Tie2* mRNS és fehérje bőségesen expresszálódnak a tüdőben és a társuló útvonal pedig a szemek fejlődését és működését irányítja. Nemrég a *TEK* gén variációi, amely a Tie2 fehérjét kódolja, asszociációt mutattak az asztmával.

Kutatócsoportunk korábban egy ovalbumin indukált asztmás egér modellt fejlesztett ki, amelyen egy teljes genom génexpressziós microarray elemzést végeztek el egészséges és asztmás egér csoportokon. 60 gént választottunk ezen eredmények alapján, amelyeket tovább vizsgáltunk az asztmában.

2. Célkitűzések

Célunk a gyermekkori asztma és különböző fenotípusainak genetikai és genomikai hátterének vizsgálata.

1. A Hippo jelátviteli útvonal szerepének vizsgálata asztmában
 - Hét Hippo útvonalon szereplő gén génextpressziós vizsgálatának kiértékelése asztmás és egészséges személyeken
 - Az asztma és a *YAP1* gén polimorfizmusok kapcsolatának felmérése allél frekvencia kiértékeléssel az asztmás betegek és az egészségesek között. További asszociációk felfedése haplotípus-, és Bayes-i statisztikai elemzésekkel.
 - FRMD6, BIRC5 és YAP1 fehérje szintek összehasonlítása asztmás és egészséges indukált köpet mintából, hogy felfedjük a Hippo útvonal fehérjék szerepét az asztmában.
 - HeLa sejtek *in vitro* kezelése BIRC5 antagonistával, YM155-tel, a Hippo jelátviteli útvonal fő molekuláinak (BIRC5, YAP1 és FRMD6) funkciójának felfedésére.
2. A Tie-2 angiopoietin receptor szerepének vizsgálata asztmában
 - A különböző asztma komorbiditások felmérése a vizsgált populációban.
 - A *TEK* gén által kódolt Tie-2 tagSNP-k asszociációjának felderítése az asztmások és a kontrollok között, hogy új biomarkereket keressünk az asztma hajlamra.
3. Hatvan korábban azonosított gén asszociációs vizsgálata asztmában
 - A variációk kiválasztása után allél frekvencia felmérése asztmások és kontrollok között.

3. Módszerek

A köpet indukció és gén expressziós mérések résztvevői

A gén expressziós mérések során 18 asztmás beteg és 10 egészséges kontroll indukált köpet mintáját használtuk. Minden alany egy részletes, előre megszerkesztett kérdőívet töltött ki az ISAAC fázis három (ISAAC Phase Three Questionnaire) kérdőív alapján. Az asztma megállapításához tüdőgyógyász szakértőink a legfrissebb “Global Initiative for Asthma” (www.ginasthma.org) irányelvet használták. Az egészséges önkénteseknek korábban nem volt sem asztmájuk sem pedig más légúti megbetegedésük, amely a kontroll csoportban való részvételüket korlátozta volna. Összehasonlítottuk a résztvevők nemét, korát, dohányzási szokásait és allergiás állapotát az asztmás és a kontroll csoport között, de nem találtunk statisztikailag szignifikáns eltérést.

A genotipizálás genetikai elemzésében résztvevők jellemzői

A *YAP1* SNP-k genotipizálása során 1233 nem rokon egyén vett részt, ahol 522 asztmás gyermek (átlag életkor \pm szórás: 10.20 \pm 5.31 év, 328 fiú és 194 lány) és 711 egészséges kontroll volt (átlag életkor \pm szórás: 14.0 \pm 11.2 év, 429 férfi és 282 nő). Továbbá a *TEK* SNP-k genotipizálása során 1189 nem rokon egyén vett részt, akikből 435 asztmás gyermek (átlag életkor \pm szórás: 10.3 \pm 4.4 év, 269 fiú és 166 lány) és 754 egészséges kontroll volt (átlag életkor \pm szórás: 13.8 \pm 11.8 év, 453 férfi és 297 nő). Emellett a hatvan korábban kiválasztott gén genotipizálása során 671 nem rokon egyén vett részt, akik közül 311 asztmás gyermek (átlag életkor \pm szórás: 10.6 \pm 4.8 év, 203 fiú és 18 lány) és 360 egészséges kontroll volt (átlag életkor \pm szórás: 21.7 \pm 13.9 év, 181 férfi, és 179 nő). Az asztma különböző típusait azonosítottuk az asztmás csoport résztvevőinél. Az asztmát allergiás és nem allergiás típusokra osztottuk. Ha a betegséget allergének váltották ki és az allergia emellett is jellemző volt a betegre, az allergia típusát is bevettük az elemzésbe. Az allergiás betegeknél attól függően, hogy milyen típusú és hány allergén indukálta a tüneteket beltéri, kültéri vagy inhalatív allergiákat különböztettünk meg. Az asztma terheléses, amennyiben a tünetek fokozódását a

testmozgás, fizikai terhelés váltja ki. Az asztma infekciós, ha a tünetek fokozódását fertőzőes akut légúti betegség váltja ki. A nem atópiás, infekciós asztmás egyének alkották a nem allergiás asztma csoportot. A kontroll csoport mintáit a Budai Gyermekkorházból és a Heim Pál Kórház Urológiai osztályáról származnak. Egyik kontroll egyének sem volt asztmás vagy más légúti tünete, illetve gyógyszert sem kellett szedniük.

Minden páciens vagy annak szülője/gyámja írásos beleegyezést adott a kutatásban való részvételhez. A kutatást a Helsinki Nyilatkozat szerint végeztük és a Magyar Tudományos Akadémia Etikai Bizottsága hagyta jóvá.

Köpet indukció

Az indukált köpet mintákat a gén expressziós vizsgálathoz, és a western blot analízishez használtuk. A sejteket lízis pufferben tároltuk -80°C -on differenciál sejtszámolás után.

DNS izolálás

1233 egyén teljes vérmintájából izoláltunk genomiális DNS-t a QIAamp blood DNA midi készlet (Qiagen, Maryland, USA) vagy az iPrep PureLink gDNA Blood készlet segítségével az iPrep Purification műszeren (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 1 ml teljes vérből kiindulva.

RNS izolálás és cDNS transzkripció

Sikeresen izoláltunk RNS-t majd végeztünk cDNS átírást 18 asztmás és 10 egészséges alany indukált köpet mintájából a Qiagen Mini RNeasy készlettel a gyártók utasítása szerint.

Génexpressziós mérés TaqMan módszerrel

Valós idejű kvantitatív PCR módszerrel génexpressziós vizsgálatot végeztünk a *LATS1*, *LATS2*, *MST1*, *MST2*, *SAV1*, *YAP1*, *TAZ* és β -*actin* géneken a 7900HT Fast

Real-Time PCR rendszeren (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA) a gyártó előírásainak megfelelően. A *β-actin*-t használtuk belső kontrollnak, így minden eredményt a gén expressziójához normalizáltunk a delta delta Ct módszerrel.

SNP választás és genotipizálás kompetitív allélspecifikus PCR technikával

A *YAPI* SNP-eket a UCSC Genom kereső program segítségével választottuk ki. Főként promóter, miszszensz, vagy UTR régióban található varicációkat választottunk, amelyek minor allél frekvenciája (MAF) a HapMap alapján a kaukázusi populációban meghaladták a 0,1-et. A *TEK* gén vizsgált polimorfizmusait a Ghosh és munkatársai tanulmánya (Ghosh et al. 2016) alapján választottuk ki. A KBioscience kompetitív allélspecifikus PCR módszerét (Competitive Allele-Specific PCR (KASP) version 4.0) alkalmaztuk a 14 *YAPI* és a 3 *TEK* SNP genotipizálásához a gyártó előírása szerint.

SNP választás és genotipizálás a Sequenom iPLEX Gold MassARRAY módszerrel korábbi asztmás egér modell vizsgálata alapján, statisztikai elemzés

A vizsgált variációkat a korábban elvégzett OVA indukált asztmás egér modell génexpressziós vizsgálat alapján választottuk ki (Agilent Whole Mouse Genome Oligo Microarray 4 x 44 K chip (GSE11911)). A microarray eredmények alapján 60 gén expressziójában figyeltünk meg statisztikailag szignifikáns eltérést és lehetséges szerepet az emberi asztmában és allergiában. Ezekről 90 SNP-t választottunk ki a UCSC genom kereső segítségével. A polimorfizmusok genotipizálásához a Sequenom iPLEX MassARRAY technológiát használtuk a kanadai McGill Egyetem és a Genome Quebec Innovációs Centrum segítségével.

Sejttenyésztés

A HeLa sejteket a gyártó előírása szerint tenyésztettük, majd begyűjtés után RIPA lízis pufferben (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA) használtuk fel őket pozitív kontrollként a Western blot analízis során. Egy másik kísérlethez szintén

HeLa sejteket tenyésztettünk hat lyukú edényben és BIRC5 gátlóval (Sepantronium Bromide (YM155) (Selleck Chemicals, München, Németország)) kezeltük őket. A kezelés során különböző koncentrációban használtuk az YM155-öt 1% dimetil szulfoxidban: 1000nM, 100nM, 10nM, 1nM, 0nM. A 48 órás inkubációs idő után begyűjtöttük a sejteket. A sejtek egyik felét RIPA lízis pufferben (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA) fehérje analízishez, míg a másik felét RLT RNeasy lízis pufferben (Qiagen, Maryland, USA) génextpressziós méréshez tettük el.

Western blot analízis

Western blot analízist végeztünk indukált köpet mintákon YAP1, FRMD6 és GAPDH fehérjéken.

Bioinformatika

Az indukált köpet vizsgálathoz a *LATS1*, *LATS2*, *MST1*, *MST2*, *SAV1*, *YAP1*, *TAZ* és a β -*actin* gének normalizált expresszióját a Mann–Whitney *U* vagy a Kruskal–Wallis teszttel elemeztük. Fisher exakt tesztjét és a Spearman nem parametrikus tesztjét is alkalmaztuk a statisztikai analízis során. A *YAP1* és a *TEK* SNP-k allél frekvenciáit allél számolással kalkuláltuk és a Hardy-Weinberg egyenlőségtől (HWE) való eltérést a DeFinetti programmal számoltuk ki. A különbségeket akkor tekintettük statisztikailag szignifikánsnak, amikor $p < 0,05$. Az SNP adatokat az SPSS program 22-es verziójával számoltuk ki (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A *YAP1* vizsgált SNP-i és az asztma illetve annak fenotípusai közötti asszociációt logisztikus regresszióval elemeztük, amelyet korrigáltunk nemre és korra is. Az SNP-k többszörös hipotézis tesztelésének a korrigálására a Benjamini-Hochberg korrekciát alkalmaztuk, így az új szignifikancia határ $p=0,004$ lett $FDR < 6.5\%$ -kal. A haplotípus elemzést a Haploview 4.2 programmal végeztük (Broad Institute of MIT, Cambridge, MA, USA). A *TEK* SNP-k többszörös tesztelésre való korrigálása után az új szignifikancia határ $p=0,008$ $FDR < 4.5\%$ -kal.

A bayesi statisztikai elemzést dr Antal Péter kutató csoportja végezte a Budapesti Műszaki Egyetem Méréstechnika és Információs Rendszerek Tanszéken.

Korábban a két kutatócsoport egy alternatív rendszerbiológiai módszert fejlesztettek ki, a Bayes-háló alapú Bayesi többszintű relevancia elemzést (Bayesian network based Bayesian multilevel analysis of relevance (BN-BMLA)). A bayes hálók gazdag eszköztárat biztosítanak a genetikai asszociációs vizsgálatokhoz, mivel részletesen és pontosan reprezentálják az erősen releváns változókat és az interakcióikat a Markov takaró szett (Markov Blanket Set) és a Markov takaró gráf (Markov Blanket Graph) opciókkal, amelyek egyszerre több változót is képesek elemezni. Emellett a bayesi általános relevancia elemzés posteriorokat ad, amelyek közvetlen vonatkoznak a hipotézisekre, ezért ezek valószínűségi adatelemző tudásbázisokat kínálnak a genetikai asszociációs elemzéshez. A tanulmányunkban 29 *YAPI*, *FRMD6* és *BIRC5* SNP-t vettünk be a BN-BMLA elemzésbe korábbi genotipizálási eredmények alapján.

4. Eredmények

Hét Hippo útvonalon szereplő gén génexpressziós vizsgálatának kiértékelése asztmás és egészséges személyeken

Minden vizsgált gén expresszióját detektáltuk az esetekben és a kontrollokban is. Az átlagos *YAP1* génexpressziója valamivel alacsonyabb volt az asztmásokban a kontrollokhoz képest ($p=0.032$). Más eltérést nem találtunk. A korrelációs vizsgálat során szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a *YAP1* mRNS szintje és a köpetben található bronchiális epitel sejtek száma között ($r=0.575$, $p=0.003$).

Az asztma és a *YAP1* gén polimorfizmusok kapcsolatának felmérése allél frekvencia kiértékeléssel az asztmás betegek és az egészségesek között. További asszociációk felfedése haplotípus-, és Bayes-i statisztikai elemzésekkel

Nem találtunk szignifikáns asszociációt egyik SNP és az asztma hajlam, az allergiás státusz, az inhalatív-, kültéri-, beltéri allergiák, allergiás- és nem allergiás asztma, rinitisz, konjunktivitisz, szérum IgE és eozinofil szintek között. Azonban az rs2846836 SNP szignifikánsan asszociálta a terheléses asztmával ($OR=2.1$ [1.3-3.4], $p=0.004$, $power=0.83$). Emellett a az rs11225138 genotípusok eloszlása szignifikánsan különbözött a GINA 1-2 és a GINA 3-4 súlyossági csoportok között ($OR=2.8$ [1.4-5.6], $p=0.003$, $power=0.83$).

A 29 *YAP1*, *FRMD6* és *BIRC5* SNP genotipizálási eredménye alapján a BN-BMLA módszer segítségével megállapítottuk a változók közötti a posteriori relevanciák valószínűségét a célváltozókra vonatkozóan. Ahogy vártuk, például az eosinophil szint és az allergiás konjunktivitisz rendkívül relevánsak az allergiás rinitisz tekintetében. A genetikai variációk esetében nem találtunk sem SNP-SNP sem pedig gén-gén interakciókat. A legrelevánsabb asszociációt az *FRMD6* génen elhelyezkedő rs9671722 SNP mutatta a terheléses asztmával, ahol az a posteriori valószínűség 0,99. A legvalószínűbb gráf direkt relevanciát mutat az rs9671722 és a terheléses asztma között, míg egy másik, szintén az *FRMD6* génen elhelyezkedő SNP, rs3751464, pedig

az allergiás rinitisszel mutat direkt relevanciát és tranzitív módon az allergiás rinitiszen keresztül a terheléses asztmával áll kapcsolatban.

Hogy további asszociációt fedjünk fel, haplotípus elemzést végeztünk. A GINA2 és GINA3 asztma súlyossági csoportok között szignifikáns eltérést mutattak az rs1426398 és az rs11225138 SNP-k amikor az allél frekvenciákat hasonlítottuk össze. A két SNP TC haplotípusa nagyobb arányban fordult elő a súlyosabb asztmás csoportban a GINA2-höz képest (28% vs. 8%; $p=10^{-7}$). Továbbá az rs11225138 és az rs1426394 SNP-k CA haplotípusa szintén szignifikáns különbséget mutatott a GINA csoportok között (26% vs. 7%, $p=10^{-7}$).

FRMD6, BIRC5 és YAP1 fehérje szintek összehasonlítása asztmás és egészséges indukált köpet mintából, hogy felfedjük a Hippo útvonal fehérjék szerepét az asztmában

Az FRMD6 fehérjét ki tudtuk mutatni minden asztmás és egészséges indukált köpet mintában. Sajnos a BIRC5 fehérjét nem tudtuk detektálni sem az egészséges sem pedig az asztmás mintákban. Érdekes módon a YAP1 fehérjét nem találtunk az egészséges köpetben, viszont az enyhe (GINA1, GINA2) asztmás mintákban igen, emellett a súlyos asztmás mintákban (GINA3, GINA4) szintén nem volt kimutatható.

HeLa sejtek *in vitro* kezelése BIRC5 antagonistával, YM155-tel, a Hippo jelátviteli útvonal fő molekuláinak (BIRC5, YAP1 és FRMD6) funkciójának felfedésére

A 48 órás inkubációs idő után az YM155 kezelés sikeresen zajlott. Minél nagyobb YM155 koncentrációjú oldattal kezeltük a sejteket, annál kevesebb sejtet találtunk az adott edényben. A DMSO-val kezelt sejtek száma megegyezett a negatív kontroll sejt számmal, tehát a DMSO látszólag semmilyen hatással nem bírt a sejtekre. A fehérje expressziós mérést Western blotlal végeztük, de egyik vizsgált fehérjét (FRMD6, YAP1, BIRC5) sem tudtuk detektálni a mintákban.

A különböző asztma komorbiditások felmérése a vizsgált populációban

Összesen 435 asztmás gyermek és 754 egészséges kontroll vett részt a genotipizálási vizsgálatban. A teljesen fenotipizált 320 asztmás beteg közül 178 (55,6%) gyermeknek volt allergiás rinitisze és 100 (31,3%) gyermeknek volt allergiás konjunktivitisze. A rinitiszes betegek közül 98 (55,1%) páciens szintén szenvedett a konjunktivitisztől. Csupán két betegnek volt konjunktivitisze rinitisz nélkül.

A *TEK* gén által kódolt *Tie-2* tagSNP-k asszociációjának felderítése az asztmások és a kontrollok között, hogy új biomarkereket keressünk az asztma hajlamra

Nem találtunk összefüggést a két SNP, rs581724 vagy az rs7876024 és az asztma között. Ennek ellére az rs581724 szignifikánsan asszociált az allergiás konjunktivitisszel a recesszív modellben ($p=0,007$; $OR=2,4$ (1,3-4,4)). A ritka allél homozigóta hordozóinak (AA genotípus) szignifikánsan magasabb a kockázata az allergiás konjunktivitisre ha már van asztmájuk. Ez a kockázat akkor is fennmaradt, amikor az egész populációt vizsgáltuk ($p = 0,003$; $OR = 2,1$ (1,3-3,6)). Egyik további vizsgált fenotípus (GINA csoport, infekciós- vagy terheléses asztma, allergiás asztma, beltéri-, kültéri, inhalatív allergiák, IgE és abszolút eozinofil szintek, allergiás rinitisz) sem asszociált az SNP-kkel.

Hatvan korábban azonosított gén asszociációs vizsgálata asztmában

A variációk kiválasztása után allél frekvencia felmérése asztmások és kontrollok között.

Négy SNP genotípus eloszlása szignifikánsan eltért az esetek és a kontrollok között a frekventista statisztika analízis során, amelynél a többször tesztelésre való korigálást is alkalmaztuk. Ezek az rs2240572, az rs2240571 és az rs3735222 a *SCIN* génen és az rs32588 a *PPARGC1B* génen. Emellett két olyan polimorfizmust azonosítottunk, amelyek érdekes funkcióval bírnak továbbá az asztma pathomechanizmusában is szerepet játszhatnak. Ezek az rs9862203 a *KLF15* (Kruppel Like Factor 15) génen és az rs1508147 a *BIRC5* génen. Mindkét variáció szignifikáns

eltérést mutatott az asztmások és az egészségesek között az Armitage trend tesztet elvégezve és az allél frekvenciák kiszámítása után is (rs9862203: $p=0,049$, OR=1,29 a G allélre; $p=0,044$; rs1508147: $p=0,049$, OR=1,26 az A allélre; $p=0,041$).

5. Konklúzió

A tanulmányunkban további bizonyítékot szereztünk, hogy az FRMD6/Hippo/YAP1 útvonal szerepet játszhat az asztmában és annak különböző fenotípusaiban is.

Megmutattuk, hogy a vizsgált Hippo jelátviteli útvonal tagok detektálhatóak az asztmás és az egészséges indukált köpet mintákban.

Megmutattuk, hogy a *YAP1* mRNS expressziója szignifikánsan alacsonyabb az asztmásokban a kontrollokhoz képest, illetve hogy a az asztmásokban a *YAP1* fő forrása a bronchiális epitel sejtek. További korrelációkat is felfedtünk a Hippo útvonal egyes tagjai és különböző, a köpet mintákban megtalálható sejt típusok között, amelyek az adott gén expressziójának forrására utalhatnak.

Olyan genetikai variációkat találtunk a *YAP1* génen, amelyek asszociáltak a terheléses asztmával illetve az asztma súlyosságával. Az utóbbi asszociációt haplotípus elemzéssel erősítettük meg. Természetesen ezen genetikai asszociációk további megerősítésre szorulnak független populáción.

A BN-BMLA elemzés során kiderült, hogy az *FRMD6* génen elhelyezkedő rs9671722 SNP direkt relevanciát mutat a terheléses asztmával, míg egy másik variáció, az rs3751464, ugyanazon a génen, direkt módon releváns az allergiás rinitsznek és tranzitív módon a rinitiszen keresztül relevanciát mutat a terheléses asztmával, további bizonyítékot nyújtva az FRMD6/Hippo/YAP1 útvonal szerepére az asztma és különböző fenotípusainak pethogenezisében.

YAP1 fehérjét egyedül az enyhe asztmás csoportban találtunk, a kontrollokban és a súlyos asztmásokban pedig nem. Érdekes lenne megvizsgálni, hogy a YAP1 fehérje aktivitás pontosan hogyan szabályozódik az asztmás légutakban. Amennyiben további tanulmányok igazolni tudják a YAP1 asszociált útvonalak regenerációs szerepét a légúti gyulladásban, azok potenciális terápiás célpontokká válhatnak az asztmában és más gyulladásos légúti megbetegedésben.

Annak ellenére, hogy több tanulmány is felvetette a Tie-2 útvonal szerepét az asztmában, nem találtunk összefüggést az asztma hajlam és a *TEK* gén vizsgált variáció között.

Emellett kiderült, hogy az rs581724 ritka homozigóta alléljainak hordozójának szignifikánsan nagyobb a kockázata az allergiás konjunktivitiszre. Ha további vizsgálatok igazolják a Tie-2 útvonal szerepét az allergiás konjunktivitisz kialakulásában, ez az útvonal terápiás célponttá válhat a betegségben.

Egy korábbi tanulmányban 90 SNP-t vizsgáltunk, amelyek 60 génen helyezkednek el, egy OVA indukált asztmás egér modellen. Két variációt azonosítottunk, egy intronikus SNP-t, az rs9862203 a *KLF15* génen, és a *BIRC5* gén 3' génhez közeli SNP-jét, az rs1508147-et. Mindkét polimorfizmus szignifikáns eltérést mutatott az asztmások és a kontrollok között. Az asszociáció már nem állt fenn a többszörös tesztelésre való korrigálás után, ám az asztmában betöltött lehetséges szerepük miatt mégis fontosnak találtuk az SNP-eket. Funkcionális vizsgálatokkal való igazolás után ezek új terápiás célpontok lehetnek.

6. Publikációk

Publikációk a doktori értekezés témájában

1. **Fodor LE**, Gézsi A, Ungvári L, Semsei ÁF, Gál Z, Nagy A, Gálffy G, Tamási L, Kiss A, Antal P, Szalai C. Investigation of the Possible Role of the Hippo/YAP1 Pathway in Asthma and Allergy. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2017 May;9(3):247-256. doi:10.4168/aair.2017.9.3.247 IF: 2.957
2. **Fodor LE**, Gézsi A, Gál Z, Nagy A, Kiss A, Bikov A, Szalai C. Variation in the TEK Gene is Not Associated with Asthma but with Allergic Conjunctivitis. *Int J Immunogenet.* 2018 Apr 18. doi: 10.1111/iji.12365. [Epub ahead of print] IF: 1.093
3. Temesi G, Virág V, Hadadi É, Ungvári I, **Fodor L E**, Bikov A, Nagy A, Gálffy G, Tamási L, Horváth I, Kiss A, Hullám G, Gézsi A, Sárközy P, Antal P, Buzás E, Szalai C. Novel genes in Human Asthma Based on a Mouse Model of Allergic Airway Inflammation and Human Investigations. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2014;6(6):496-503. doi:10.4168/aair.2014.6.6.496. IF: 2.160

Publikációk nem az értekezés témájában

1. Balla Bernadett, **Fodor Lili**, Lakatos Péter: Az obesitas genetikája c. fejezet. *Klinikai obezitológia.* Budapest: Semmelweis Kiadó, 2017. pp. 31-48.
ISBN:9789633313435
2. Sági, J. C., Kutszegi, N., Kelemen, A., **Fodor, L. E.**, Gézsi, A., Kovács, G. T. Erdélyi, D. J., Szalai, C., Semsei, Á. F. Pharmacogenetics of anthracyclines. *Pharmacogenomics* 2016;17(9): 1075-1087. doi:10.2217/pgs-2016-0036 IF: 2.350

3. Sándor N, Schilling-Tóth B, Kis E, **Fodor L**, Mucsányi F, Sáfrány G, Hegyesi H. TP53inp1 Gene Is Implicated in Early Radiation Response in Human Fibroblast Cells. Piva T, ed. Int J Mol Sci. 2015;16(10):25450-25465. doi:10.3390/ijms161025450. IF: 3.226