

Záróbeszámoló a K68758 OTKA pályázat eredményeiről (Losonczy György, 2007-2011)

Cím: Természetes ölősejtek légúti gyulladásokban

A beszámoló részei:

1. NKT lymphocyták kísérletes asthmában (ábrák a Záróbeszámoló végén külön).
2. A természetes immunaktiváció hatására fellépő kortikoszteroid rezisztencia mechanizmusának vizsgálata rendszerbiológiai módszerekkel az allergiás asthma állatkísérletes modelljében
3. Lymphocyta subpopulációk terhes asthmás betegekben

1. NKT lymphocyták kísérletes asthmában

(Az ábrák a csatolt „NKT ábrák” nevű power point file-ban láthatók)

Az iNKT sejtek asztmában betöltött szerepe vitatott. A jelenlegi felfogás szerint kétféle módon járulhatnak hozzá az asztma kialakulásához. Enyhe-középsúlyos perzisztens betegségben a Th2 lymphocytákkal karöltve effektor sejt-ként funkcionálhatnak. A Th2 sejtek alakítják ki a megfelelő citokin környezetet, melynek következtében olyan endogen glikolipidek expresszálódnak, amelyek képesek az iNKT sejtek odavonzására és aktiválására (mivel képesek specifikusan kötődni az invariábilis T sejt receptorhoz). Ezzel szemben súlyos, perzisztens asztmában, különösképpen glukokortikoszteroid (GCS) -rezisztens asztmában az iNKT sejtek kifejtetik effektor funkciójukat a Th2 sejtek közreműködése nélkül is. Ilyenkor az iNKT sejteket közvetlenül aktiválhatják a patogén mikrobákból származó (exogén), illetve a légúti vírusfertőzések hatására másodlagosan felszabaduló (endogén) glikolipidek (1). Következésképp a légúti iNKT sejtaktiváció révén kialakuló betegség vélhetően az asztma szindróma egy elkülönült szubtípusa, úgynevezett endotípus (külön entitás) (2).

Kísérletünkben létrehoztuk és karakterizáltuk a légúti iNKT sejtaktiváció által kiváltott (α -galactosyl-ceramiddal – α -GalCer- kezelt egerek) légúti gyulladás és hiperreaktivitás (LHR) állatkísérletes modelljét. Tekintve, hogy a légúti iNKT aktiváció különösképp a súlyos, GCS-rezisztens asztmásokra jellemző, kísérleteink kifejezetten a kialakuló patofiziológiai eltérések GCS válaszkészségének meghatározását célozták.

Kísérleteink eredményei szerint:

-Az NKT stimuláló α -GalCer önmagában képes az allergiás légúti betegséget utánzó fenotípus létrehozására (1. ábra).

-A kialakuló gyulladás (2-4. ábra) nagyrészt GCS rezisztens (IL-5, bronchoalveolaris lavage (BAL) eosinophilek, NKT sejtek szöveti infiltrációja). Az NKT sejteknek szerepe lehet az allergiás gyulladás kialakulásában, ugyanakkor az NKT sejt populáció mérete GCS hatására a tüdőben (és a mosófolyadékban) tovább fokozódik (α -GalCer kezelt állatokban).

-Az α -GalCer hatására fellépő LHR jól reagál szteroidra (5. ábra, az NK és a neutrofil sejtszám párhuzamosan csökkent Dex-re, 6-7. ábra). Az NKT sejtek által aktivált NK és neutrofil sejtek szerepet játszhatnak az LHR kiváltásában.

-Az IL-10 szintje α -GalCer hatására csökkent és Dex kezelés után is alacsony maradt. Az NKT stimuláció részt vehet a légúti tolerancia áttörésében az IL-10 koncentráció csökkentése révén (8. ábra).

-Az iNKT sejtek egy szubpopulációja α GalCer aktivációra gyors IL-17 elválasztással reagál (3).

-Habár vizsgálatunkban a tüdő mosófolyadék NKT sejttszáma tovább emelkedett GCS kezelést követően (9. ábra), az IL-17 szintje nullára csökkent GCS hatására. A Th17 sejtek IL-17 termelése azonban nem blokkolható szteroiddal (4). Kísérletünkben α GC kezelést alkalmaztunk, ami szelektíven aktiválja az iNKT sejteket, melyek képesek rövid idő alatt nagy mennyiségű cytokint termelni. Figyelembe véve az IL-17 szint gyors (48 órán belüli) növekedését és Th17 sejtektől eltérő GCS-válaszkésztséget, az IL-17 valószínű forrása modellünkben az iNKT sejt. Megfigyeltük, hogy a BAL sejtalkotók közül egyetlen sejtípus sejttszáma csökkent konzekvensen a GCS kezelés hatására: a neutrofil granulocitáké (9-10. ábra). Mivel az IL-17 fontos szerepet tölt be a légúti neutrofil influx kiváltásában (5, 6), a szteroid hatására fellépő neutrofil sejttszám-csökkenés hátterében részben az IL-17 markáns esése állhat.

Korábban kimutatták, hogy már az intranazális α GalCer kezelést követően már 24 órával megjelenik a neutrofil sejtsszaporulat a BAL-ban és kialakul a LHR (eozinofil sejttszám-emelkedés azonban nem figyelhető meg ebben az időpontban). Míg a neutrofil sejtsszaporulat csökken ebben a modellben anti-IL-17 neutralizáló antitest hatására, a LHR nem változik a kezelés hatására. (7)

-Az IL-17 szerepének jobb megértése érdekében kísérleteket végeztünk IL-17 KO egereken. Az állatokat Prof. Yoichiro Iwakura intézetéből (Center for Experimental Medicine and Systems Biology, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Japán) kaptuk az 1. sz. Gyermekklinika (Dr. Vannay Ádám) közreműködésével.

-Az IL-17 veleszületett hiánya alacsonyabb neutrofil sejttszám-emelkedést eredményezett 48 órával az α GalCer kezelést követően (11-12. ábra). Ugyanakkor a LHR azonos súlyosságú vad típusú és IL-17 KO állatokban (13-14. ábra). Megfigyeltük továbbá, hogy az α GalCer kezelés hatására fellépő LHR GCS-rezisztens IL-17 KO állatokban, míg a vad típusú állatok esetében GCS érzékeny. Következésképp az IL-17-nek kritikus szerepe lehet a LHR szteroid válaszkésztségenek fenntartásában.

-A CD4+ NKT sejtek nagyobb mértékben képesek más sejteket (CD4 T sejtek, NK sejtek) stimulálni (8). Az tapasztaltuk, hogy α GC kezelés hatására az NKT sejttszám egyaránt megnő vad és IL-17 KO állatok BAL-jában (15-17. ábra). Azonban szignifikánsan több NKT sejt volt CD4+ az IL-17 KO állatok BAL-jában a vad típusú állatok mintáihoz viszonyítva (17. ábra). GCS kezelés hatására a CD4+/- NKT sejttszám arány mind vad, mind IL-17 KO állatokban csökken. Ugyanakkor a CD4+/- NKT sejttszám arány GCS kezelés után is lényegesen magasabb IL-17 KO állatok mintáiban a vad állatokhoz viszonyítva (17. ábra).

Következésképp az IL-17 veleszületett hiánya alapvetően befolyásolja a különböző NKT szubpopulációk fejlődését és/vagy válaszkésztséget, ami a CD4+/- NKT sejttszám arány CD4+ irányú eltolódásában mutatkozik meg légúti α GC kezelést követően. Kimutatták korábban, hogy az allergiás légúti gyulladás állatkísérletes modelljében az IL-17 képes a LHR mérséklésére szenzitizált állatokban. (9) Az IL-17 hiány NKT sejtek viselkedésére kifejtett hatásának szerepe lehet abban, hogy a α GC kezelés hatására fellépő LHR IL-17 KO állatokban GCS-rezisztens, míg a vad típusú állatok esetében GCS érzékeny, mivel a CD4+ NKT sejteknek nagyobb aktivációs potenciállal rendelkeznek.

Azon asztmás betegek esetében, akik légúti gyulladását nagymértékben jellemzi az iNKT sejtaktiváció (akik az iNKT domináns endotípusba tartoznak), az IL-17 produkció mértéke befolyásolhatja a

terápiás választ, azaz az IL-17 gén esetleges „loss of function” mutációja csökkentheti a GCS válaszkésztséget. Természetesen további – humán – vizsgálatok elvégzése szükséges ennek a hipotézisnek a bizonyítására.

2. A természetes immunaktiváció hatására fellépő kortikoszteroid rezisztencia mechanizmusának vizsgálata rendszerbiológiai módszerekkel az allergiás asthma állatkísérletes modelljében

Kísérletes vizsgálatunk során reprodukáltuk a korábban beállított (és publikált) állatmodellünket, amely a glükokortikoid-rezisztens asthma egy modellje egérben. Ovalbuminnal (Ova) szenzitizált állatokon az Ova (allergén) provokációt megelőzően egy Lps előkezelést (priming-ot) alkalmaztunk. Az ennek eredményeként kialakuló eosinophil légúti gyulladás és légúti hiperreaktivitás (LHR) részben glükokortikoid-rezisztens. A modell és az alkalmazott módszerek részletes leírását lásd korábbi közleményünkben (1). Itt csak azokat a módszereket ismertetjük, melyek eltérnek a korábban leírtaktól:

Légúti hiperreaktivitás

A légúti reaktivitást invazív módon, géppel lélegeztetett állatokon mértük. Az egereket 250 μ L dH₂O-ban oldott 100 mg/kg ketamine (WDT, Garbsen, Németország) és 10 mg/kg xylazine (Bayer, Leverkusen, Németország) ip. injektálásával altattuk el. Az állatokat egy in-line porlasztó (EZT OTKA KERETBŐL VETTÜK SZERINTEM) segítségével, MCh inhalációval provokáltuk, így határoztuk meg a légúti válaszkésztséget (reaktivitást). Az alapvonal (PBS inhaláció közben végzett) rögzítése után az egymást követő, duplázódó MCh dózisokat ötpercenként porlasztottuk a tracheakanülbe (3,125; 6,25; 12,5; 25 és 50 mg/mL MCh, 4 μ L PBS-ben feloldva).

Kísérleti csoportok

C: kontroll (csak placebo kezelések)

OVA: Ova szenzitizáció és provokáció (allergizálás) – intranasalis előkezelés csak placeboval (PBS)

LPS/OVA: Ova szenzitizáció, intranasalis Lps előkezelés (96 órával az R_L mérés és a BAL előtt) és Ova provokáció

OVA+DEX: Az Ova provokáció 2. és 3. napján sc. dexamethasonnal kezelt OVA állatok

LPS/OVA+DEX: Az Ova provokáció 2. és 3. napján sc. dexamethasonnal kezelt LPS/OVA állatok

Minden OVA és LPS/OVA állat sc. fiziológiás só injekciót kapott (placeboként) az OVA+DEX és LPS/OVA+DEX állatok Dex kezelésével egy időben. A BALF sejtek kvalitatív és kvantitatív értékelése és a LHR meghatározása minden egyednél megtörtént (n=6 / csoport).

Génexpresszió mérése microarrayvel

Minden vizsgálati alany mellüregéből (az állat túlaltatása után) kiemeltük a jobb középső tüdőlebenyt, melyet folyékony nitrogénben gyorsan lefagyasztottuk. Az mRNS izolálása (a szövet homogenizálása után) kromatográfiás módszerrel, RNeasy kittel (Qiagen, Hilden, Németország) történt a gyártó előírásai szerint. Az izolált RNS minőségellenőrzését Bioanalyzerrel (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) végeztük el, majd a koncentrációmérést és beállítást követően (Nanodrop, Thermo Scientific, Wilmington USA) az array gyári reagenseit használtuk a reverz transzkripcióhoz és a jelöléshez. A génexpresszió meghatározást csoportonként 4 állat mintájából végeztük el teljes egérgenom oligo microarray 4x44K chip felhasználásával (Agilent Technologies,

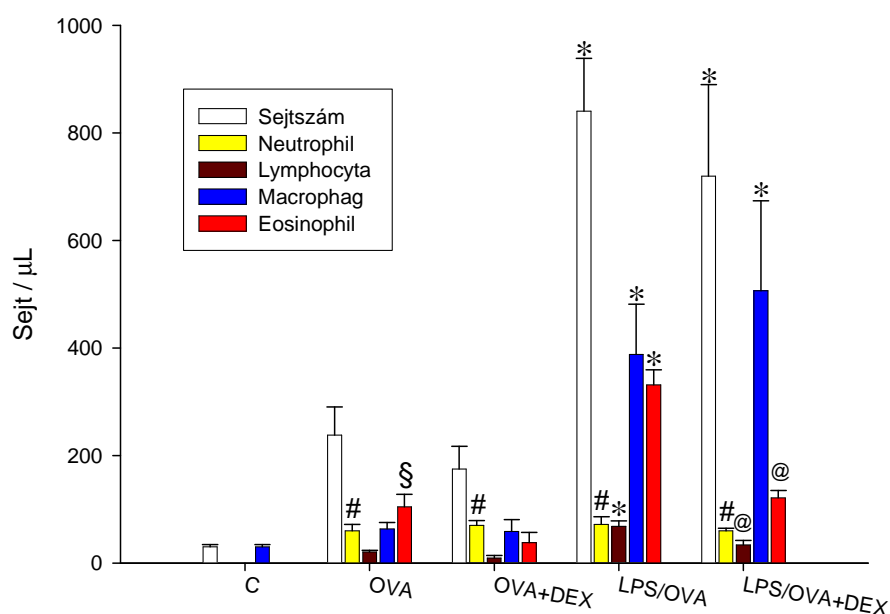
Santa Clara, USA; Design ID: 014868, Unrestricted, AMADID, 60mer, features, 4 array lemezenként) a Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézetében található Core Facility laboratórium közreműködésével. A reverz transzkripció, jelölés és hibridizálás során a gyártó által előírt protokollt követtük. A mérést Agilent Scannerrel, 5 mikronos felbontással végeztük, majd az adatokat Feature Extraction Software 9.5.1. segítségével normalizáltuk. Az adatok kiértékelését GeneSpring GX program segítségével végezzük (Agilent Technologies, Santa Clara, USA).

Eredmények

A kísérletünkben a korábban publikált eredményekhez nagymértékben hasonló légúti gyulladás és hiperreaktivitás értékeket mértünk, következésképp a modell reprodukciója sikeres volt. [Lásd alább, zárójelben]

Légúti gyulladás

Az OVA (allergizált) állatokban – az Ova inhalációt követően – szignifikánsan megnőtt a BALF eosinophil (és neutrophil) sejtszáma. Az LPS/OVA állatokban viszont a macrophagok, lymphocyták és különösen az eosinophil granulocyták száma lényegesen nagyobb mértékben emelkedett, mint az OVA egerekben. Tehát az egy nappal az Ova inhalációk előtt alkalmazott intranasalis Lps instillatio (priming) szignifikánsan súlyosbította a légúti gyulladást és kiváltképp annak eosinophil jellegét.

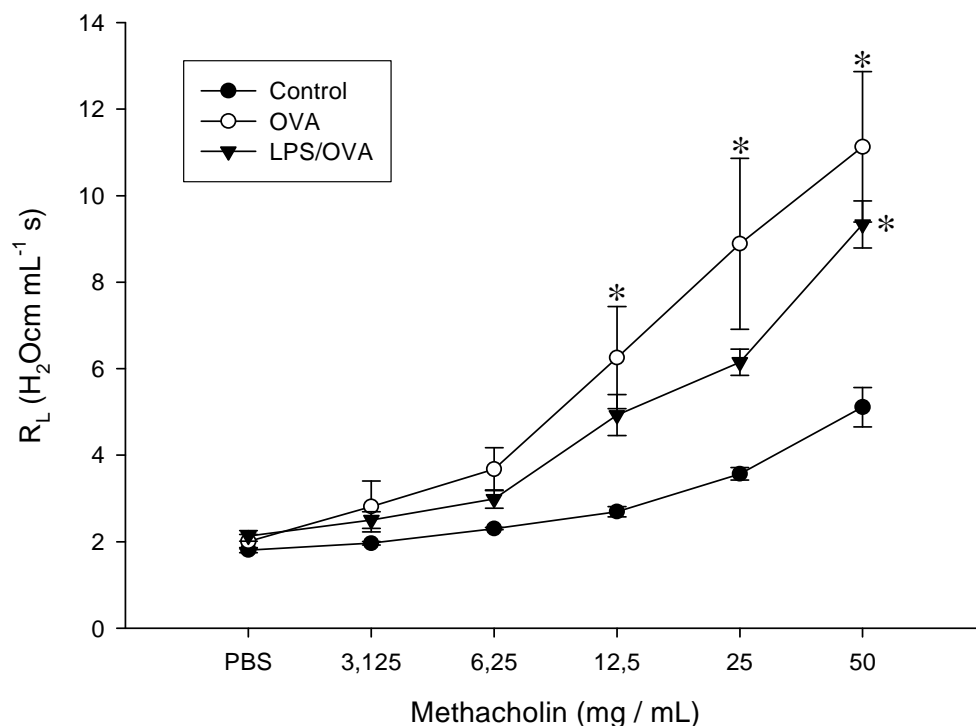


1. ábra: A BALF mennyiségi és minőségi sejttözetetele. Az eosinophil sejtszaporulatot súlyosbította az Lps előkezelés Ova szenzitizált és provokált állatokban (LPS/OVA). A Dex kezelés (5 mg/kg/nap) jelentősen csökkentette az eosinophil sejtszámot OVA egerekben (OVA+DEX). A Dex az LPS/OVA+DEX állatokban a gyulladással járó sejtszámokat a kezeltlen OVA állatok esetében talált értékig csökkentette. *: $p < 0,05$ vs. C, OVA és OVA+DEX; #: $p < 0,05$ vs. C; §: $p < 0,05$ vs. C és OVA+DEX; @: $p < 0,05$ vs. C, OVA+DEX és LPS/OVA, ns vs. OVA.

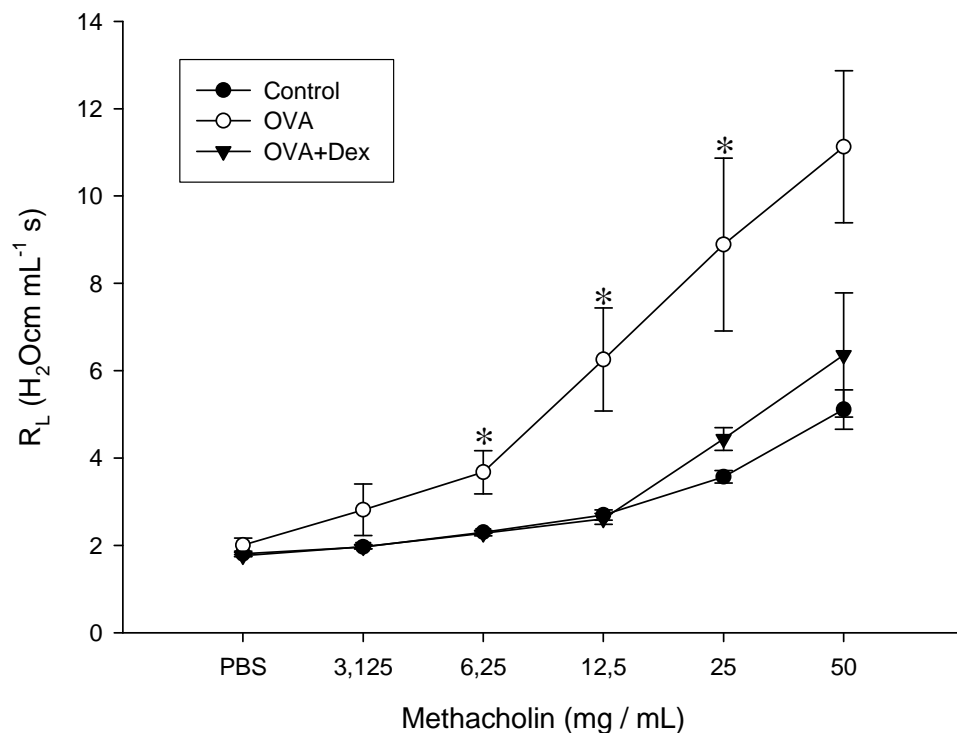
A Dex hatékonyan csökkentette az eosinophil légúti gyulladást az OVA allergizált állatokban. Bár az LPS/OVA egerek esetében a Dex kezelés szintén csökkentette a sejtgyulladást, az eosinophil és macrophag sejtszámok mégis szignifikánsan magasabbak voltak ezekben az egyedekben, mint az OVA+DEX csoportban. Figyelemreméltó ugyanakkor, hogy az LPS/OVA+DEX és az OVA (szteroiddal nem kezelt) csoportokban egyformán magas eosinophil sejtszámokat találtunk (1. ábra).

Légúti reaktivitás

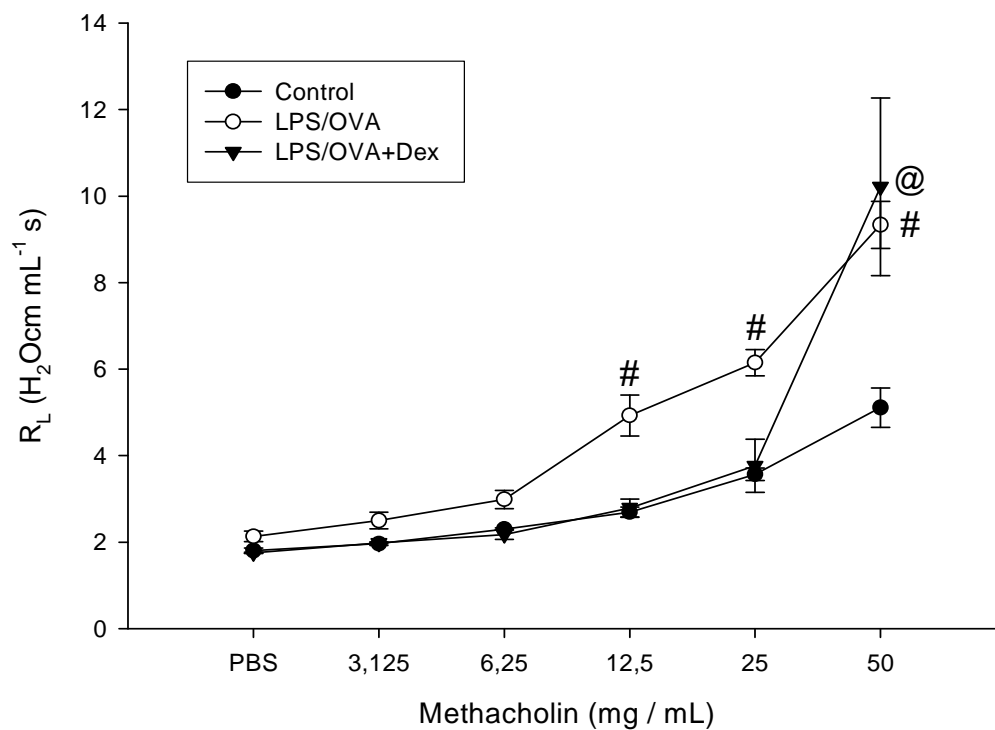
A szenzitizált és allergénprovokált OVA állatokban kifejezett LHR fejlődött ki. Az R_L mintegy háromszor nagyobb mértékben emelkedett a három legnagyobb MCh dózis hatására, mint a C állatokban. Ugyanakkor az LPS/OVA állatokban egy kisebb mértékű, de szignifikáns LHR alakult ki (2. ábra). A tisztán allergizált (OVA) állatok LHR-jét a kontroll szintjére csökkentette a Dex (OVA+DEX; 3. ábra). Az LPS/OVA egerek esetében a LHR szintén lecsökkent Dex hatására (a 3,125-25 mg/mL-es MCh dózis-tartományban), azonban a legmagasabb (50 mg/mL-es) MCh dózis beadását követően jelentős R_L növekedést detektáltunk (LPS/OVA+DEX; 4. ábra).



2. ábra: Az Lps előkezelés hatása az LHR-re (a tüdőellenállás – R_L – változásra). Az OVA allergizált állatokban markáns LHR fejlődött ki. Az Lps előkezelt, Ova szenzitizált és provokált állatok (LPS/OVA) légúti válaszkészsége kisebb, mint az OVA egereké. *: $p < 0,05$ vs. C.



3. ábra: A Dex hatása az Ova szenzitizált és provokált (OVA) állatok LHR-jére. *: $p < 0,05$ vs. C és OVA+DEX.

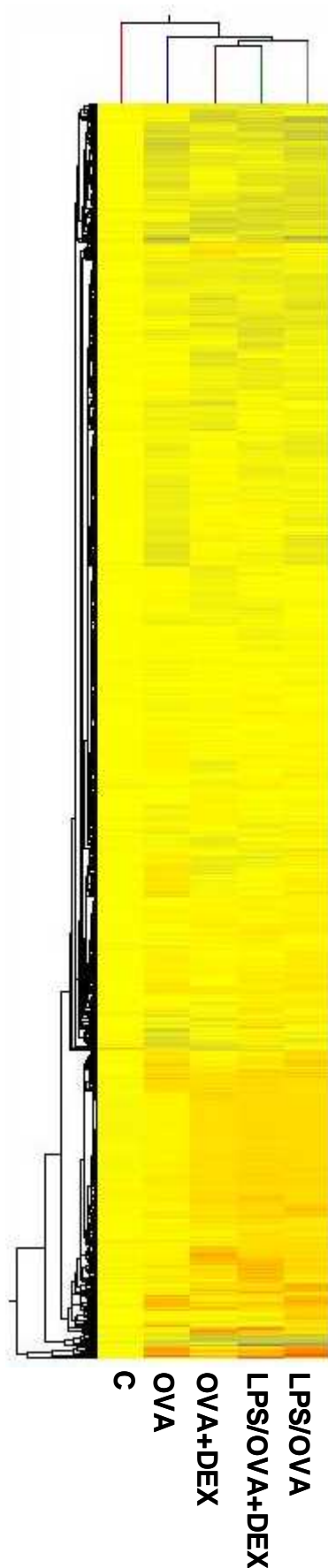


4. ábra: A Dex hatása az Lps előkezelt Ova szenzitizált és provokált (OVA) állatok LHR-jére. #: $p < 0,05$ vs. C és LPS/OVA+DEX; @: $p < 0,05$ vs. C.]

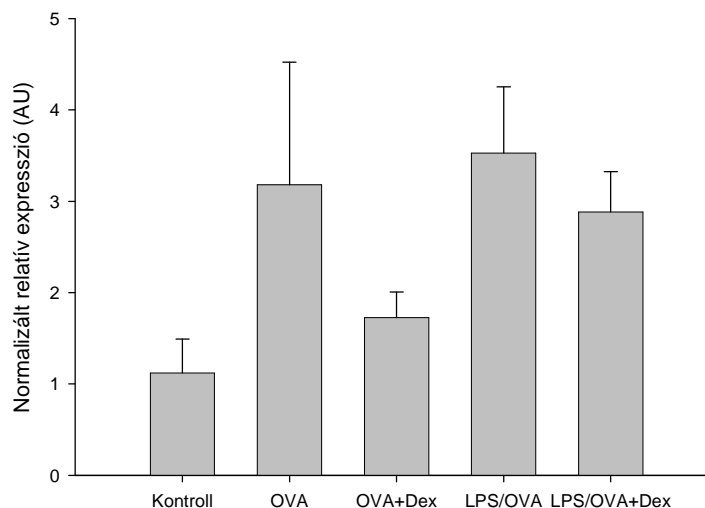
Microarray mérés

Öt vizsgálati csoportunk (C, OVA, OVA+DEX, LPS/OVA, LPS/OVA+DEX) összesen 20 egyedének (n=4 / csoport) tüdőszövetéből történt microarray vizsgálat. A chip felületén 41534 60-mer oligonukleotid próba található, így mintegy 41000 egér gén expresszóját mértük meg minden mintából. A mellékelt ábrán a normalizált, és csoportonként átlagolt eredmények cluster analízise látható (5. ábra). A génexpressziós (microarray) eredmények kiértékelése során – első közelítésben – a

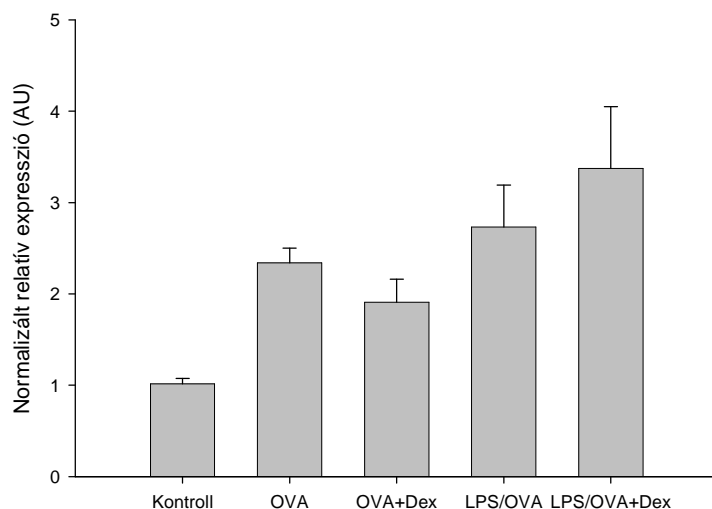
kontroll csoporthoz képest szignifikáns eltérést ($p < 0.01$ vs. C) és legalább kétszeres up- illetve down-regulációt mutató géneket vettük figyelembe. Az elemzés során elkülönítettük azon géneket, melyek az LPS/OVA csoportban mutattak eltérést, viszont nem változtak meg szignifikánsan az OVA állatokban (vs. C), valamint azon géneket, melyek az LPS/OVA+Dex csoportban mutattak eltérést, viszont nem változtak meg az OVA+Dex egerekben. Ezt követően képeztük a fenti két elkülönített géncsoport részhalmozát. Az így módon azonosított 23 kandidáns gén valószínűleg szerepet játszik a glükokortikoid-rezisztencia pathomechanizmusában az allergiás asztma általunk használt állatkísérletes modelljében. Ezek közül néhány, az asthma és a glükokortikoid-rezisztencia ismert kórelletani mechanizmusában (pl.: oxidatív stressz) részt vevő gén volt. Ez a tény támogatja a kiindulási hipotézisünket, miszerint a modellünk az emberi glükokortikoid-rezisztens asztma releváns állatmodellje. Ezen kívül azonosítottunk számos új kandidáns gént (6. ábra), melyek terápiás célpontok lehetnek a glükokortikoid-rezisztencia kezelésében asztmában. A kísérlet további kiértékelése és validálása (real time qPCR, asztmás betegek mintái) jelenleg is folyamatban van.



"A" KANDIDÁNS GÉN



"B" KANDIDÁNS GÉN



6. ábra: Kandidáns gének

Irodalomjegyzék

1. Meyer EH, DeKruyff RH, and Umetsu DT. T Cells and NKT Cells in the Pathogenesis of Asthma. *Annu Rev Med* 2008; 59:281.
2. Lötvalld J, Akdis CA, Bacharier LB, Bjermer L, Casale TB, Custovic A, Lemanske RF Jr, Wardlaw AJ, Wenzel SE, and Greenberger PA. Asthma endotypes: A new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127:355.
3. Rachitskaya AV, Hansen AM, Horai R, Li Z, Villasmil R, Luger D, et al. Cutting edge: NKT cells constitutively express IL-23 receptor and ROR γ t and rapidly produce IL-17 upon receptor ligation in an IL-6-independent fashion. *J Immunol* 2008;180:5167.
4. Laura McKinley, John F. Alcorn, Alanna Peterson, Rachel B. DuPont, Shernaaz Kapadia, Alison Logar, Adam Henry, Charles G. Irvin, Jon D. Piganelli, Anuradha Ray, and Jay K. Kolls. T_H17 Cells Mediate Steroid-Resistant Airway Inflammation and Airway Hyperresponsiveness in Mice. *J Immunol* 2008;181;4089.
5. Laan M, Cui Z-H, Hoshino H, Lötvalld J, Sjöstrand M, Gruenert DC, Skoogh B-E, and Lindén A. Neutrophil Recruitment by Human IL-17 Via C-X-C Chemokine Release in the Airways. *J. Immunol.* 1999;162:2347.
6. Lindén A, Hoshino H, and Laan M Airway neutrophils and interleukin-17 *Eur Respir J* 2000;15:973
7. Kyoo-A Lee, Min-Hee Kang, Yoon-Sook Lee, Yeon-Jeong Kim, Dong-Hyeon Kim, Hyun-Jeong Ko, Chang-Yuil Kang. A distinct subset of natural killer T cells produces IL-17, contributing to airway infiltration of neutrophils but not to airway hyperreactivity. *Cellular Immunology* 2008;251:50

8. Lin H, Nieda M, Rozenkov V, and Nicol AJ. Analysis of the effect of different NKT cell subpopulations on the activation of CD4 and CD8 T cells, NK cells, and B cells. *Experimental Hematology* 2006;34:289.
9. Schnyder-Candrian S, Togbe D, Couillin I, Mercier I, Brombacher F, Quesniaux V, Fossiez F, Ryffel B and Schnyder B. Interleukin-17 is a negative regulator of established allergic asthma *J Exp Med* 2006;203:2715.
10. Komlosi ZsI, Pozsonyi E, Tabi T, Szoko E, Nagy A, Bartos B, Kozma GT, Tamasi L, Orosz M, Magyar P, Losonczy G. Lipopolysaccharide exposure makes allergic airway inflammation and hyper-responsiveness less responsive to dexamethasone and inhibition of iNOS. *Clin Exp Allergy* 2006; 36:951-9.

3. Lymphocytá subpopulációk terhes asthmás betegekben

Az első munka során különböző lymphocytá szubpopulációk aktivált hányadának nagyságát mértük meg asztmás és egészséges terhes asszonyok perifériás vérében. Kontrollcsoportként azonos korú asztmás és egészséges nem terhes nők kerültek bevonásra. Az eredmények alapján nem terhes asztmás és egészséges terhes asszonyok esetében is emelkedik az aktivált arány mind a CD4+, mind a CD8+, mind pedig az NK (natural killer) T lymphocytá szubpopulációkon belül, azonban asztmás terhességben ehhez képest további növekedés a CD4+, CD8+ vagy NK T sejtpopulációkon belül mérhető aktivált sejtszámok tekintetében nincs (1).

Következő vizsgálatunk célja a Treg, az effektor, és a naiv CD4+ T sejtek arányának meghatározása volt asztmás terhességben. A Treg sejtek aránya az egészséges nem terhes kontrollcsoporthoz képest egészséges terhességben nagyfokú proliferációt mutatott, és ez a növekedés az asztmás terhes csoportban elmaradt. Egészséges terhességben a Treg arány szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az újszülöttkori születési súllyal, asztmás terhességben ez az összefüggés sem volt meg. A terhesség immunszuppresszív hatását támasztotta alá az a megfigyelés, hogy fennálló gesztáció esetén a naiv CD4+ T sejtek száma szignifikánsan magasabb, az effektor CD4+ sejtek száma pedig alacsonyabb volt, mint terhesség hiányában, az asztmás és egészséges csoportokban egyaránt (2).

További vizsgálatunk célja a Hsp70 szérumszint meghatározása volt egészséges (N=40) és asztmás (N=40) terhesekben. Az asztmás várandós nőknél a Hsp70 szérumszint szignifikánsan magasabb volt, mint egészséges terhességben (3).

2011 elején a fenti és korábbiakban közölt, asztmás terhességre jellemző immunstátus leírását célzó vizsgálataink adatait, illetve a saját és a Kaiser Permanente Medical Center (San Diego, USA) terhes allergológiai betegellátásának klinikai tapasztalatait együttesen összefoglaló közleményben írtuk le (4).

Legutóbbi vizsgálatunk célja asztmás terhesek Th1, Th2, Treg, és Th17 perifériás sejtarányainak meghatározása volt. A Th1/Th2 sejtarány mind egészséges terhességben, mind pedig nem terhes asztmások esetében csökkent az egészséges nem terhes adatokhoz képest, asztmás terhességben azonban további csökkenés nem volt kimutatható. A Th17/Treg arány egészséges terhességben csökkent, és ez a csökkenés asztmás terhességben elmaradt. A Th17 sejtarány egészséges nem terhes és terhes nőkben azonos volt, és az asztma jelentősen megemelte mind a nem terhes, mind pedig a terhes csoportban (5).

A további kutatás során az asztma kontroll szintjét határoztuk meg inhalációs kortikoszteroid és hosszú hatású béta-agonista fix kombinációs kezelést különböző eszközökből kapó

beteganyagon (N=111). A kistrészecskék kibocsátására képes aeroszolból adott terápia jobb asztma kontrollt biztosított, mint a szárazpor inhalátorból adott kezelés (6). Az eredmények értékelése és közlése a Division of Pharmacy, School of Applied Sciences, University of Huddersfield (Huddersfield, Egyesült Királyság) intézettel közösen történt.

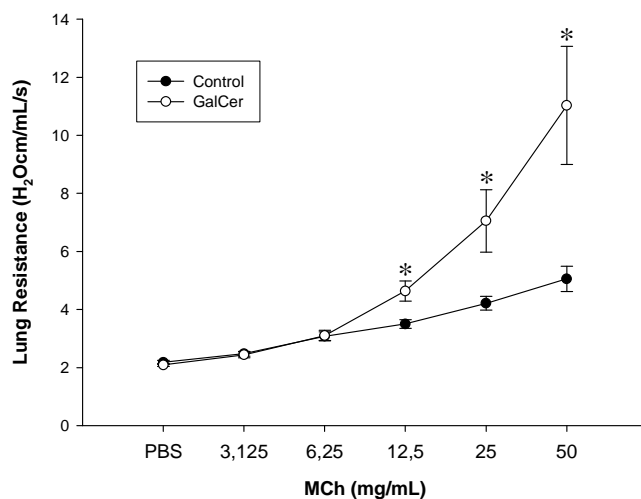
További vizsgálatunk célja a kemoterápia indukálta anémia súlyosságának, valamint az eritropoietin szupportáció gyakorlatának vizsgálata volt a tüdőrákos betegek (N=482) ellátásában. Az eredmények alapján a mindennapi betegellátás körülményei között a mérsékelt súlyos vagy súlyos kemoterápia indukálta anémia előfordulási aránya 17%-os. Az anémiás betegek több mint 50%-a nem kap megfelelő eritropoietin szupportációt és ebben a betegcsoportban gyakrabban van szükség a kemoterápia halasztására, mint a megfelelően szupportált betegek esetében (7).

Fenti eredményeket ismertető közlemények jegyzéke

1. Bohács A, Pállinger É, Tamási L, Rigó J Jr, Komlósi Zs, Müller V, Dong Y, Magyar P, Falus A, Losonczy Gy. Surface markers of lymphocyte activation in pregnant asthmatics. *Inflamm Res.* 2010;59(1):63-70.
2. Bohács A, Cseh Á, Stenczer B, Müller V, Gálffy G, Molvarec A, Rigó J Jr., Losonczy Gy, Vásárhelyi B, Tamási L. Effector and regulatory lymphocytes in asthmatic pregnant women. *American Journal of Reproductive Immunology.* 2010;64(6):393-401.
3. Tamási L, Bohács A, Tamasi V, Stenczer B, Prohászka Z, Rigó J Jr., Losonczy Gy, Molvarec A. Increased circulating heat shock protein 70 levels in pregnant asthmatics. *Cell Stress and Chaperones.* 2010; 15(3):295-300.
4. Tamási L, Horváth I, Bohács A, Müller V, Losonczy Gy, Schatz M. Asthma in Pregnancy – Immunological Changes and Clinical Management. *Respiratory Medicine* 2011;105: 159-164.
5. Toldi G, Molvarec A, Stenczer B, Müller V, Eszes N, Bohács A, Bikov A, Rigó Jr. J, Vásárhelyi B, Losonczy Gy, Tamási L. Peripheral Thelper1/Thelper2/Thelper17/regulatory T cell balance in asthmatic pregnancy. *Int Immunol* 2011; IN PRESS.
6. Muller V, Gálffy G, Eszes N, Losonczy G, Bizzi A, Nicolini G, Chrystyn H, Tamasi L. Asthma control in patients receiving inhaled corticosteroid and long-acting beta2-agonist fixed combinations. A real-life study comparing dry powder inhalers and a pressurized metered dose inhaler extrafine formulation. *BMC Pulm Med.* 2011 Jul 15;11(1):40.
7. Tamási L and Müller V (“equo loco”), Eszes N, Kardos T, Vincze K, Losonczy Gy, Szilasi M. Patterns of erythropoiesis-stimulating agent use for chemotherapy- induced anemia in lung cancer. Results of a retrospective Hungarian real-life clinical data analysis. *Expert Opin Drug Saf.* 2011 Jul;10(4):503-7.

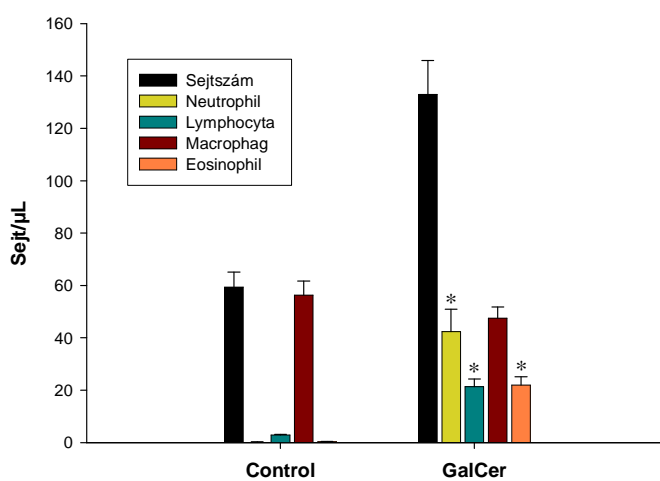
A Záróbeszámoló 1. pontjához tartozó ábrák gyűjteménye

1. ábra. LÉGÚTI REAKTIVITÁS



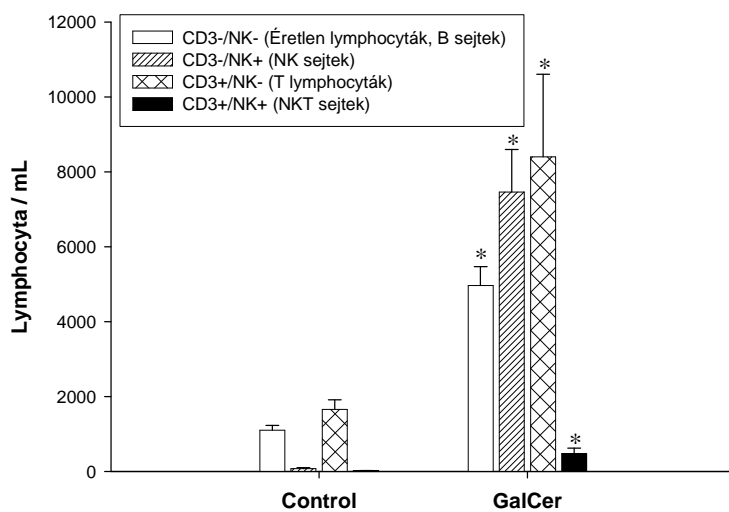
*: p<0.05 vs. Control (n=8)

2. ábra. BAL SEJTSZÁMOK



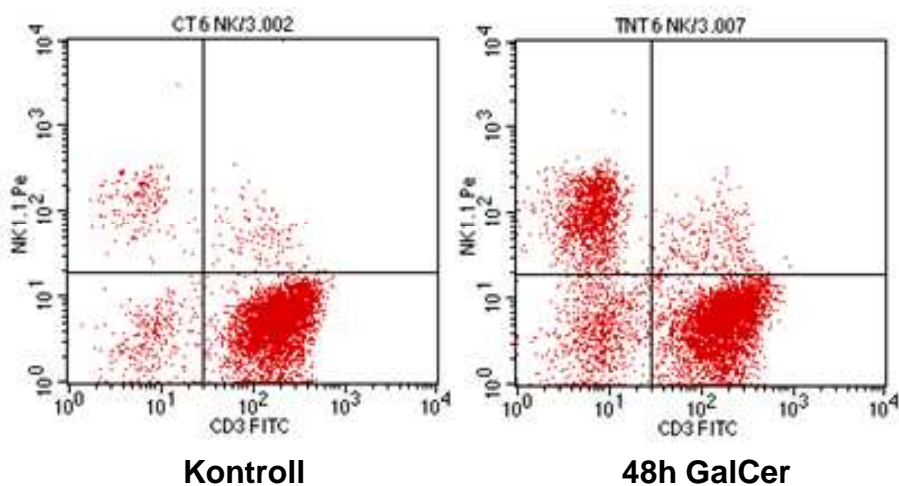
*: p<0.05 vs. Control (n=8)

3. ábra. BAL LYMPHOCYTÁK

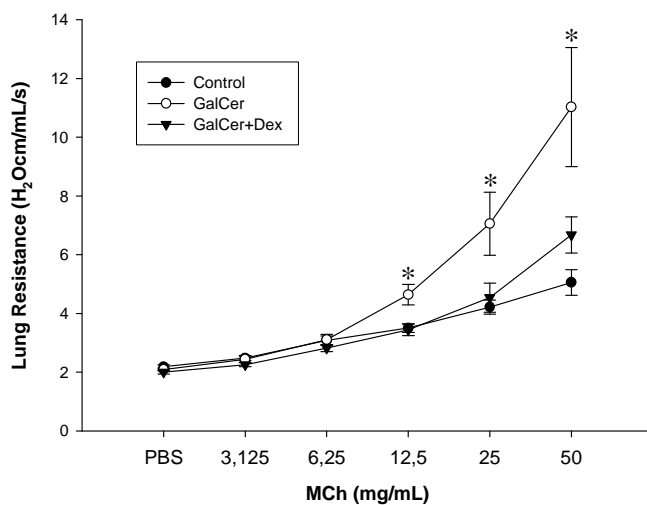


*: $p < 0.01$ vs. Control (n=8)

4. ábra. ÁRAMLÁSI CYTOMETRIA

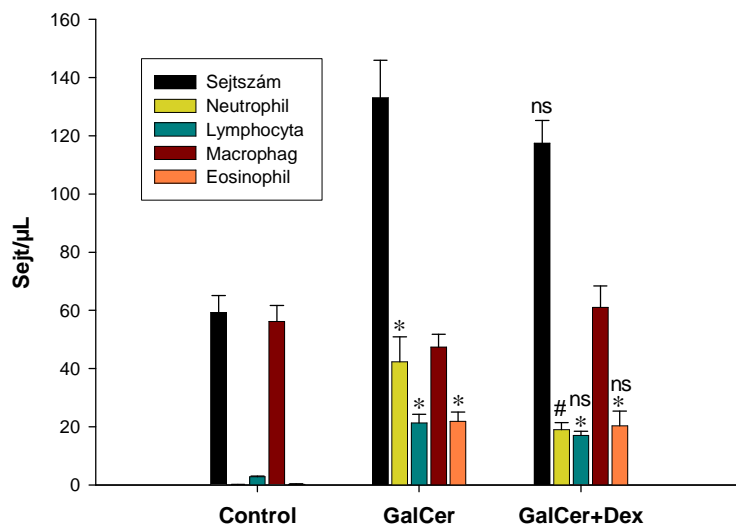


5. ábra. STEROID HATÁSA 1. – LÉGÚTI REAKTIVITÁS



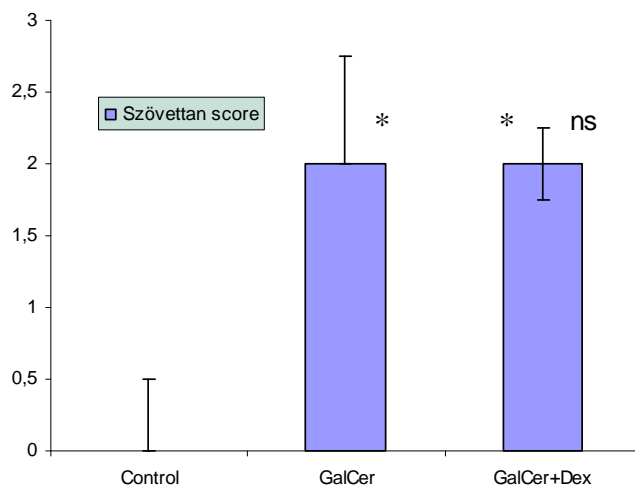
*: $p < 0.05$ vs. Control és GalCer+Dex (n=8)

6. ábra. STEROID HATÁSA 2. – BAL SEJTSZÁMOK



*: $p < 0.05$ vs. Control, #: $p < 0.05$ vs. Control és GalCer, ns: $p > 0.05$ vs. GalCer (n=8)

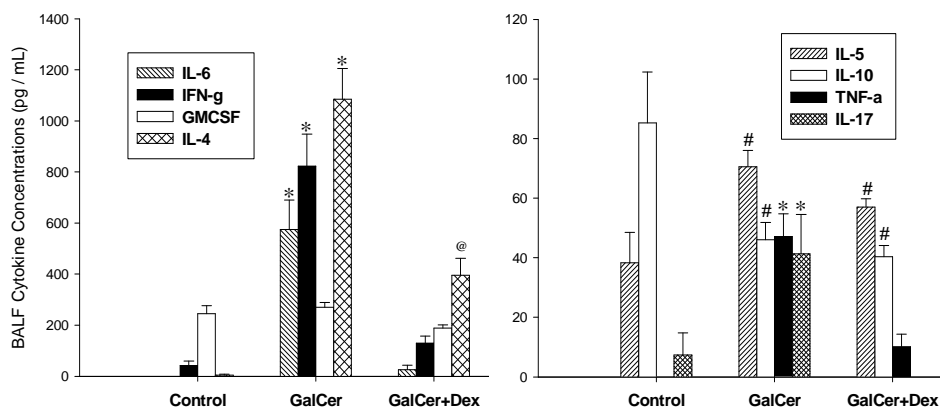
7. ábra. STERIOD HATÁSA 3. – SZÖVETTAN



*: $p < 0.05$ vs. Control; ns: $p > 0.05$ vs. GalCer (n=6)

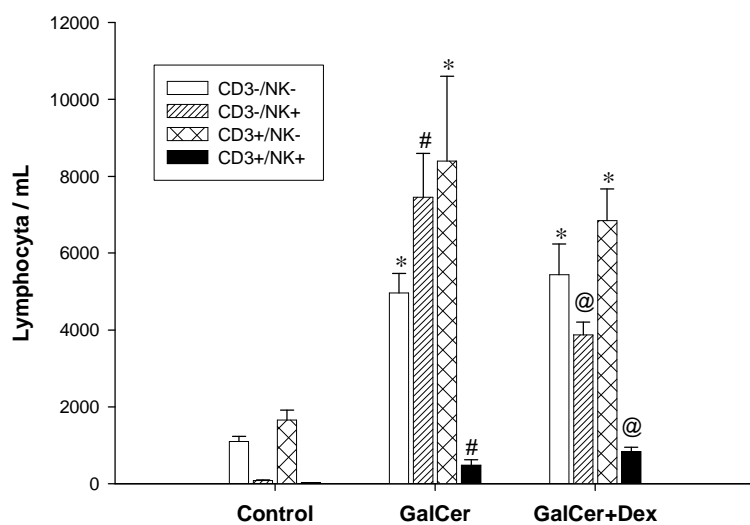
BAL CYTOKINEK

8.ábra



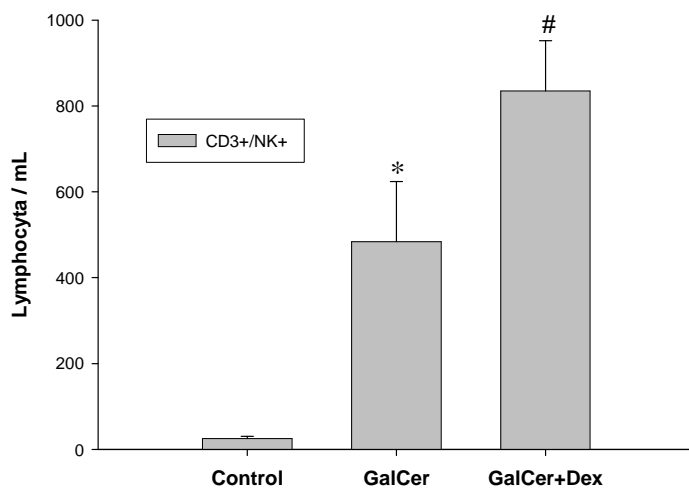
*: $p < 0.05$ vs. Control and GalCer+Dex, #: $p < 0.05$ vs. Control
@: $p < 0.05$ vs. Control and GalCer (n=8)

9. ábra. STEROID HATÁSA 4. – BAL LYMPHOCYTÁK

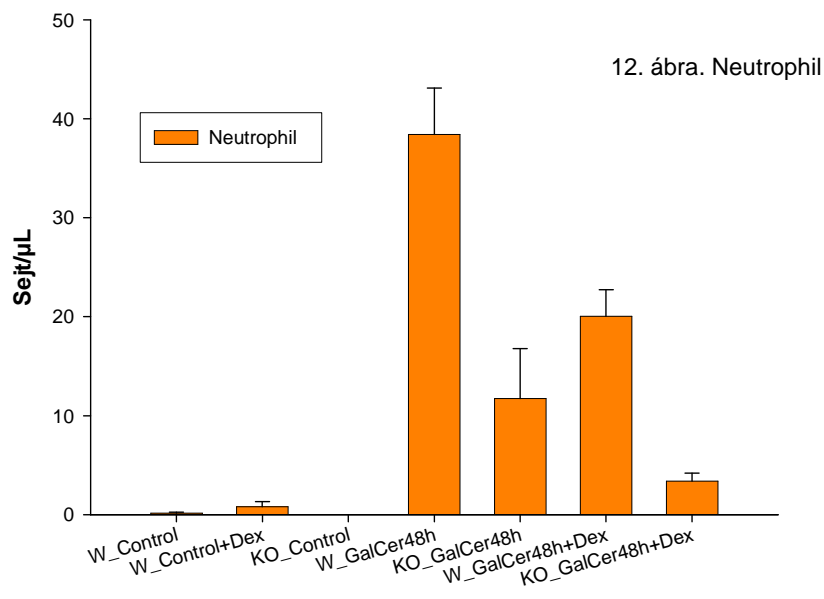
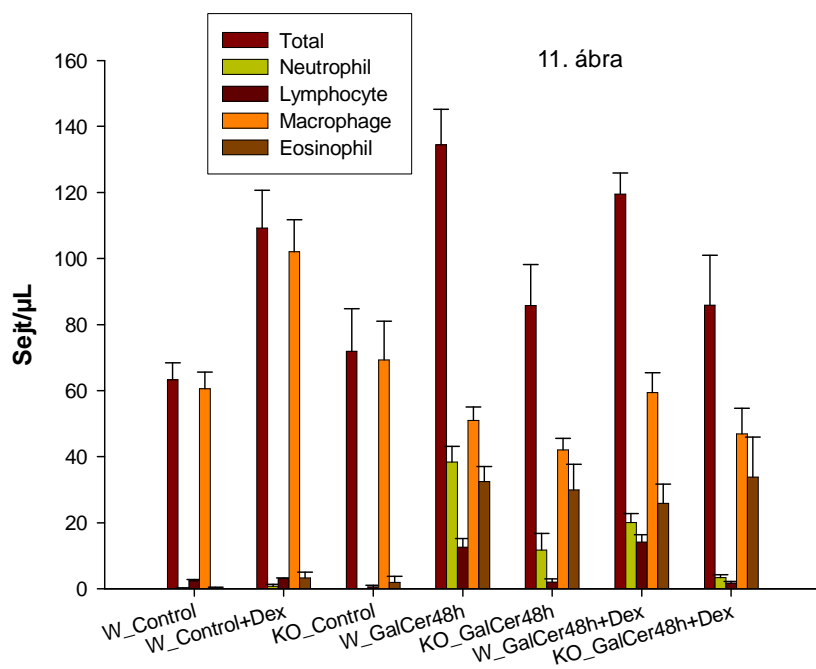


*: $p < 0.01$ vs. Control, #: $p < 0.01$ vs. Control és GalCer+Dex, @: $p < 0.01$ vs. Control és GalCer (n=8)

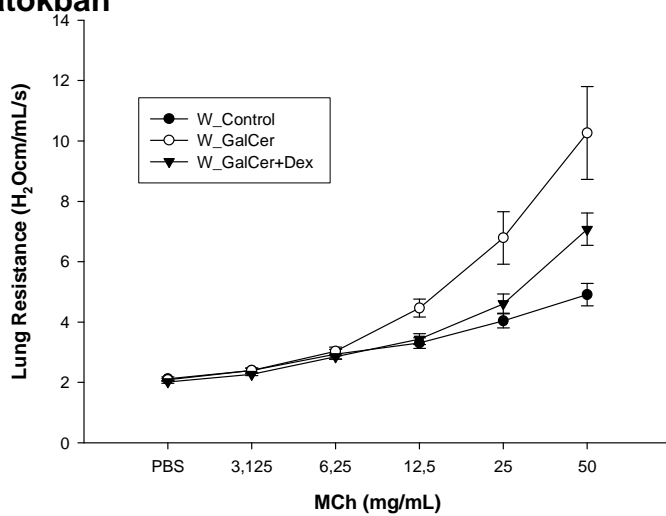
10. ábra. STEROID HATÁSA – BAL NKT SEJTEK



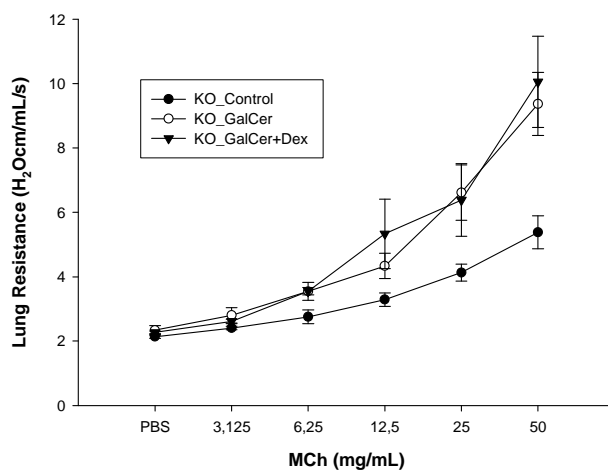
*: $p < 0.01$ vs. Control és GalCer+Dex, #: $p < 0.01$ vs. Control és GalCer



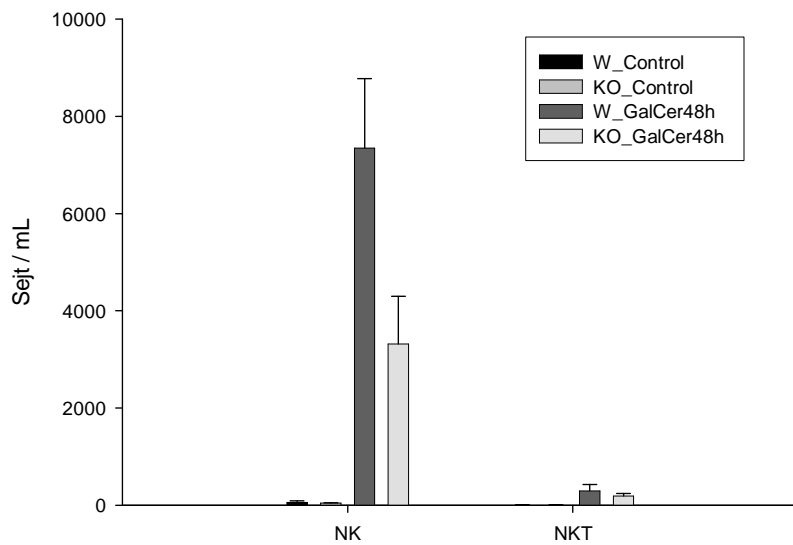
13. ábra. Légúti reaktivitás IL-17 vad típusú állatokban



14. ábra. Légúti reaktivitás IL-17 KO állatokban



15. ábra. NK és NKT



16. ábra. NKT

