

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:

Prof. Dr. Cseh Károly, egyetemi tanár, MTA doktora

Hivatalos bírálók:

Dr. Tamási Lilla PhD

Dr. Major Tamás PhD

Szigorlati bizottság elnöke:

Prof. Dr. Gergely Péter, egyetemi tanár, MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Gálffy Gabriella PhD

Dr. Tamás László PhD

Dr. Katona Gábor PhD

Budapest

2011

I. Bevezetés

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. Reprezentatív mintavétellel történt felmérések alapján Magyarországon is hasonló frekvenciával számolhatunk, az AR hazai előfordulása 15-25%. 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 eddigiéknél 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 gyulladási 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 gyulladási kórképek kialakulása 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 gyulladáshoz vezető 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 zsírsavanyagcserében és a daganatképződésben is. Az intracellulárisan elhelyezkedő PPAR fehérjéket többek között a TNF (tumor necrosis factor) fehérje által indított transzkripciós mechanizmusok során képződő molekulák is aktiválhatják. Korábbi vizsgálataink során allergiás rhinitises betegcsoportban emelkedett szérumszintű TNF- α szintet találtunk. Jelen kutatásom során tanulmányoztam a TNF- α átíródásához szükséges TNF- α promotor 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.

II. Célkitűzések - 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

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- peak nasal inspiratory flow).
- 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 allélpolimorfizmusaival.

- 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.

III. Betegek és módszerek

1. 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.

2. A vizsgálat körülményei

A vizsgálatokat a parlagfű pollenszezon csúcán, 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.

3. A vizsgált paraméterek

A betegek tíz klinikai paraméterét (orrfolyás, orrdugulás, orrvizketés, tüsszögés, szemvizketés, könnyezés, szemvörösség, torokvizketés, 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 belézési 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. A PNIF mérése lehetőséget ad az AR-ben szenvedők klinikai állapotának objektív megítélésére. A betegeknél mért PNIF értékek jó jelzői a nasalis obstrukciónak és a betegek szubjektív panaszainak.

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 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 µl-es szérummintákat 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 µl 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) restriktív 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.

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 a DNS vizsgálatok PCR-RFLP módszerrel történtek.

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** vizsgáltam 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 2 ó.

Futtatás: 3% agaróz gélen 120 V, 25 perc

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 készülékkel

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

A **PPAR-γ2 Pro12Ala** (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 UI** 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'.

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'').

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** enzimmal (New England Biolabs, Boston, MA, USA) emésztettem, 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''.

4. 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.

IV. Az eredmények összefoglalása

○ 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-gamma Pro12Ala), rs 3856806 (exon6 C/T) és rs 4253778 (PPAR-alpha 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.

V. Következtetések

Munkám során a Fül- Orr- Gégészeti és Fej- Nyaksebészeti Klinikán nyilvántartott, allergiás rhinitisben szenvedő betegek adatainak feldolgozásával vizsgáltam a szérumszintek változását pollenszezonban, illetve szezon után. Elemeztem, hogy a szérumszintek milyen összefüggésben állnak a nasalis belégzési csúcsáramlással és a szérumszintjével. Összefüggést kerestem a TLR-4 Asp299Gly és Thr399Ile allélpolimorfizmusok előfordulása és a betegek mért paramétereinek szintje között.

Vizsgálataim során a **sTNF- α** és a **FasL** pollenszezonban mért szintje AR-es betegekben szignifikánsan magasabb volt, mint szezon után. A szolubilis **TNF receptor-1** és a **sFas** szintekben statisztikailag jelentős szezonális ingadozást nem tudtam igazolni és nem találtam különbséget a betegek és a kontroll páciensek szérumszintje között sem.

Eredményeim szerint **szezonálisan változó** paraméternek bizonyult a szolubilis **TNF- α** és a **FasL**, míg **szezonálisan nem változott** a szolubilis **TNF receptor-1** és a **sFas** szérumszintje. Ezen eredmények nagy része összecseng a vonatkozó irodalom megállapításaival, de néhány esetben eltérést tapasztaltam. Negatív

korreláció mutatkozott a PNIF és a sTNF- α , valamint az IgE értékek között.

A **TNF- α -238 pozíciójú promoter polimorfizmusa** mutáns alléljének gyakorisága nagyobb volt az AR-ben szenvedő betegek csoportjában a referens csoporthoz képest. Ilyen összefüggést korábban nem publikáltak. 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 mindkét promoter polimorfizmus különböző alléljeinek hordozása esetén.

Az elmúlt évek immunológiai felfedezései a figyelmet a **Toll- szerű receptorokra** irányították. Az általam vizsgált betegpopulációban több olyan paramétert azonosítottam, amely szignifikáns kapcsolatban volt a TLR-4 vizsgált polimorfizmusával. A **TLR-4 Asp299Gly és Thr399Ile** polimorfizmust hordozó betegekben a **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 számos megbetegedés kezelésében és megelőzésében. A TLR- ek

működésének módosítása hatásos lehet többek között allergiás rhinitisben szenvedő betegekben is. További részletes elemzéseket igényel az adagolás mennyiségének és időtartamának meghatározása, hiszen a Toll- szerű receptorrendszer túlaktiválása autoimmun betegségekhez vezethet. Napjainkban, ahogy a TLR- dependens immunválasz molekuláris alapjait kezdjük jobban megismerni, ennek befolyásolása a legígéretesebb új terápiás lehetőségek közé tartozhat.

Végeredményképpen megállapíthatjuk, hogy a TLR-4 gén polimorfizmusa módosíthatja a gazdaszervezet mikrobiális ágensekre adott válaszreakcióját, hiszen a jelátviteli út módosulásának következtében változik a génexpresszió, 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.

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

A nukleáris receptorcsaládba tartozó peroxiszóma proliferációt aktiváló receptor (**PPAR- γ** és **α**) a nukleáris faktor- κ B (NF- κ B)

transzkripció faktor gátlásán keresztül csökkenti több citokin termelődését, és szerepe lehet az allergiás állapotok kialakulásában.

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- UW- FHCEC, AFFY, PARC, CSHL-HAPMAP adatbázisok).

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 befolyásolják az allergiás rhinitisben szenvedő betegek klinikai tüneteinek súlyosságát, a betegek TNF- α és IgE szintjének alakulását.

Szignifikáns pozitív lineáris korreláció mutatkozott az emelkedett sTNF- α , sFas, sFasL, IgE koncentrációk és a klinikai tüneti 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 találtunk a PPAR-gamma mutáns 12A1a allélját, és exon6 T allélját illetve a PPAR-alpha intron7 C allélját hordozó, allergiás rhinitisben szenvedő betegekben, a pollenszezonban és azt követően.

A PPAR-alpha intron7 G/C polimorfizmusának, valamint a PPAR-gamma Pro12A1a és exon6 C/T allélpolimorfizmusának összefüggését a klinikai tünetekkel, citokin- és IgE koncentrációkkal szezonális allergiás rhinitisben szenvedő betegekben idáig még nem vizsgálták. Megfigyeléseink között újdonság, hogy a PPAR-gamma mutáns 12A1a és exon6 T allélja és a PPAR-alpha intron7 C allélja befolyásolják a klinikai tünetek súlyosságát, gyulladáscitokin és IgE szinteket az allergiás rhinitisben szenvedő betegekben mind a pollenszezon alatt, mind azt követően. Mindebből arra következtethetünk, hogy a PPAR-gamma és a PPAR-alpha magi receptorok polimorfizmusai valószínűleg hozzájárulnak az allergiás rhinitises betegek klinikai és immunológiai paramétereinek sokféleségéhez. A légutak gyulladáscsökkentő és reparációs folyamatainak irányítóiként a PPAR-ok szerepe is felmerül, mint a légúti betegségek kezelésének leendő célpontjai.

A tudományos dolgozat témájában megjelent sajtó:

közlemények

Solubilis Fas és solubilis Fas-ligand szérumszintjének vizsgálata rhinitis allergicában szenvedő felnőtt betegekben

Krasznai M., Kraxner H., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G.

Fül-Orr-Gégegyógyászat 53: 1. p.4-8. 2007.

Szolubilis TNF-R1 és TNF- α vizsgálata allergiás rhinitisben pollenszezonban és tünetmentes időszakban

Krasznai M., Kraxner H., Varga E., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G.

Fül-Orr-Gégegyógyászat 54:1.p.27-31.2008

Association of TLR-4 and TNF-alpha polymorphisms with clinical symptoms and cytokine levels in patients with allergic rhinitis

M.Krasznai, K.Szaniszlo, H.Kraxner, E.Vargha, M.Kovacs, Z.Borocz, E.Kaszas, Gy.Mezei, E.Cserhati, K.Cseh

Eur.Arch.Oto-rhino-laryn. 268: p.561-567.2011

IF:1,167 (2009)

Association of PPAR polymorphisms with cytokine levels in allergic rhinitis

M.Krasznai, K.Szaniszlo, H.Kraxner, E.Vargha, M.Kovacs, Z.Borocz, E.Kaszas, Gy.Mezei, E.Cserhati, G. Répássy, K.Cseh

Eur.Arch.Oto-rhino-laryn. - megjelenés alatt

Nem a dolgozat témájában megjelent közlemény:

Paget's disease of the temporal bone: treated the patients with bisphosphonate

Donath J., **Krasznai M.**, Fornet B., Poor Gy.

Rheumatology 43: 1. p. 89-94. (2004)

IF:4,102

Absztraktok

Solubilis citokinek szérumszintjének vizsgálata rhinitis allergiában szenvedő betegeken

Krasznai M., Kraxner H., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G.

Magyar fül-orr-gégészeti kongresszus Gyula, (2006)

Solubilis citokinek szérumszintjének vizsgálata rhinitis allergiában szenvedő felnőtt betegeken

Krasznai M., Kraxner H., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G.

Magyar fül-orr-gégészeti kongresszus Debrecen, (2006)

sTNF-alfa, TNF-R1, FAS és FAS ligand szérum szintek összefüggése a TNF- α promoter-238, -308 G/A és a TLR 4 gén asp299gly és thr399ile allépolimorfizmusokkal szezonális allergiás rhinitisben szenvedő betegeken

Krasznai M., Kraxner H., Vargha E., Kozma G., Mezei Gy., Cserhádi E., Répássy G., Cseh K.

Fül-orr-gégegyógyászat, 56: 3, p.162.2010.

A PPAR- γ pro12ala polimorfizmusának vizsgálata, összefüggése a szérum TNF- α és SFAS szintekkel, klinikai tünetekkel allergiás rhinitisben

Kraxner H., **Krasznai M.**, Vargha E., Kozma G., Mezei Gy. Cserhádi E., Répássy G. Cseh K.

Fül-orr-gégegyógyászat, 56: 3, p.162.2010.

A TNF- α promoter-238, -308 G/A és TLR-4 gén Asp299Gly és Thr399Ile polimorfizmusainak kapcsolata a szérumban TNF- α és a sFAS szintekkel allergiás rhinitisben

Krasznai M, Kraxner H, Vargha E, Kozma G, Mezei Gy, Cserháti E, Szaniszló K, Répássy G, Cseh K

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-, Nyaksebész Orvosok Egyesülete 40.

Jubileumi Kongresszusa

Nemzetközi részvétellel

2008. október 15-18

TELJES PUBLIKÁCIÓS TEVÉKENYSÉG

Cikkek

Loderix tabletta klinikai alkalmazásának eredményei chronicus rhinitisben

Hirschberg A., **Krasznai M.**, Ribári O.

Gyógyszereink 39: 146-148. (1989)

Results of the Loderix in chron rhinitis' patients

A. Hirschberg, **M. Krasznai**, O. Ribári

Therapia Hungarica

37: 202-204. (1989)

Vasomotoros rhinitis kezelése cryotherápiával

Krasznai M., Ribári O., Rózsa I.

Fül-orr-gégegyógyászat, 35, 235-238. (1989)

Környezeti ártalmak és a légzőszervi allergiás betegségek fül-orr-gégészeti vonatkozásai

Krasznai M., Hirschberg A

Környezeti Ártalmak és a légzőrendszer konferencia, Tatabánya, Nov. 23-25. (1989)

p. 107-113. (1990)

Rhinaaxia orrspray alkalmazása allergiás rhinitisben

Hirschberg A., **Krasznai M.**, Ribári O.

EGIS doc. (1990)

Recidiváló Streptococcus pharyngitis c. cikk kommentárja

Krasznai M.

Orvostovábbképző Szemle

3: 5. p. 93-94. (1996)

Jelentés a Tinset tablettá klinikai próbájáról
Hirschberg A., **Krasznai M.**
OGYI dokumentáció EGIS (1998)

Desloratadin hatékonyságának és tolerálhatóságának multicentrikus vizsgálata szezonális allergiás rhinitisben
Farkas H. és a Multicentrikus munkacsoport
Hirschberg A., **Krasznai M.** és munkatsai
Klinikai tanulmányok
Orvosi Hetilap
144: 21. 1021-1024. (2003)

Paget's disease of the temporal bone: treated the patients with bisphosphonate
Donath J., **Krasznai M.**, Fornet B., Poor Gy.
Rheumatology 43: 1. p. 89-94. (2004)
IF: 4,102

Kraxner H., **Krasznai M.**:
Az allergiás rhinitis
Háziorvos Továbbképző Szemle
11:801-808.2006.

Solubilis Fas és solubilis Fas-ligand szérumszintjének vizsgálata rhinitis allergiában szenvedő felnőtt betegeken
Krasznai M.,Kraxner H., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G.
Fül-Orr-Gégegyógyászat 53: 1. p.4-8. 2007.

Szolubilis TNF-R1 és TNF- α vizsgálata allergiás rhinitisben
pollenszezonban és tünetmentes
időszakban

Krasznai M., Kraxner H., Varga E., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G.

Fül-Orr-Gégegyógyászat 54:1.p.27-31.2008

Miért kell orrcsepp expediálásakor a magasvérnyomás-betegséget tisztázni?

Krasznai M., Barna I.

Gyógyszerész Továbbképzés, 3:1.p.26-27.2009

Akut felső légúti hurut, nátha gyógyítása

Krasznai M., Szaniszló K., Kraxner H., Répássy G.

Gyógyszerész Továbbképzés 4: 5.p.146-148.2010

Jegyzet expediálói szakasszisztens-képzéshez

Krasznai M.,

Felső légúti megbetegedések

p.107-126. 2010

Kiadó: Vajas Katalin Litográfia Nyomda, Debrecen

Association of TLR-4 and TNF-alpha polymorphisms with clinical symptoms and cytokine levels in patients with allergic rhinitis

M.Krasznai, K.Szaniszlo, H.Kraxner, E.Vargha, M.Kovacs,

Z.Borocz, E.Kaszas, Gy.Mezei, E.Cserhati, K.Cseh

Eur.Arch.Otorhinolaryngol 268: p.561-567.2011

IF: 1,167 (2009)

Szubjektív szaglászvizsgálati módszerek

Fekesházy Olívia OH, Keresztesi Gáborné OH, Dr. Révész Mónika,

Dr. Krasznai Magdolna, Dr. Kraxner Helga PhD, Dr. Kovács Tibor

PhD, Dr. Szaniszló Kinga, Prof. Dr. Répássy Gábor PhD

Fül-orr-géggegyógyászat - megjelenés alatt

Association of PPAR polymorphisms with cytokine levels in allergic rhinitis

**M.Krasznai, K.Szaniszlo, H.Kraxner, E.Vargha, M.Kovacs,
Z.Borocz, E.Kaszas, Gy.Mezei, E.Cserhati, G. Répássy, K.Cseh**
Eur.Arch.Otorhinolaryngol - megjelenés alatt

Allergiás rhinitis

Krasznai M.

Orvostovábbképző Szemle - megjelenés alatt

Abstractok

Környezeti ártalmak és a légzőszervi allergiás betegségek fül-orr-
gégészeti vonatkozásai

Krasznai M., Hirschberg A

előadás

Környezeti Ártalmak és a légzőrendszer konferencia, Tatabánya, Nov.
23-25. (1989)

Vasomotoros rhinitis és kezelése

Krasznai M., Ribári O., Rózsa I.

előadás

Allergológiai Konferencia Sopron (1991)

A specifikus immunterápia szerepe a fül-orr-gégegyógyászatban

Krasznai M.

Magyar Fül-orr-gégeorvosok Egyesülete Tudományos Ülése, Budapest
(1993)

Céltzott antibiotikus kezelés sinusitisben antibiogram alapján

Krasznai M., Fent Z., N oszek L.

Országos Gyermek fül-orr-gégészeti kongresszus, Székesfehérvár,
(1999)

Gyermekkori felsőlégúti infekciók antibiotikus kezelése a SOTE Fül-orr-gégészeti Klinikáján

Noszek L., **Krasznai M.**, Fent,Z.

Országos Gyermek fül-orr-gégészeti kongresszus, Székesfehérvár, (1999)

Az antibiogramm szerepe a fül gyulladáisos megbetegedéseinek kezelésében

Fent Z., Noszek L., Gratz K., **Krasznai M.**

Országos Gyermek fül-orr-gégészeti kongresszus, Székesfehérvár, (1999)

A felső légúti fertőzések kórokozói - tenyésztési eredményeink alapján

Krasznai M., Fent Z., Noszek L., Ostorházi Eszter:

A Magyar Fül-Orr-Gégeorvosok Egyesületének jubileumi, 36. Nemzeti Kongresszusa

Abstract p. 62.

Hévíz, Hotel Panoráma, október 24-28. (2000)

Az antibiotikumok szerepe az acut otitis media kezelésében

Fent Z., Noszek L., **Krasznai M.**

Magyar fül-orr-gégészeti kongresszus Hévíz, (2000)

Mikrobiológiai diagnosztika jelentősége a fül-orr-gégészetben

Noszek L., Cukás Zs., **Krasznai M.**, Fent Z.

Magyar fül-orr-gégészeti kongresszus Hévíz, (2000)

Aktuális kérdések az allergiás rhinitis témaköréből

Hirschberg A., **Krasznai M.**

Fül-orr-gégészeti kórképek a háziorvosi gyakorlatban, Budapest, Hotel Millennium, (2002)

Gyermekek felső légúti fertőzéseinek kezelése klinikánkon

Krasznai M., Noszek L.

VI. Budapesti Gyermekgyógyászati konferencia, (2003)

Solubilis citokinek szérumszintjének vizsgálata rhinitis allergiában szenvedő betegeken

Krasznai M., Kraxner H., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G.

Magyar fül-orr-gégészeti kongresszus Gyula, (2006)

Solubilis citokinek szérumszintjének vizsgálata rhinitis allergiában szenvedő felnőtt betegeken

Krasznai M., Kraxner H., Mezei Gy., Kozma G., Cserhádi E., Gergely P., Répássy G.

Magyar fül-orr-gégészeti kongresszus Debrecen, (2006)

sTNF-alfa, TNF-R1, FAS és FAS ligand szérumszintek összefüggése a TNF- α promotor-238, -308 G/A és a TLR 4 gén 299Gly és 399Ile allélpolimorfizmusokkal szezonális allergiás rhinitisben szenvedő betegeken

Krasznai M., Kraxner H., Vargha E., Kozma G., Mezei Gy., Cserhádi E., Répássy G., Cseh K.

Fül-orr-gégegyógyászat, 56: 3, p.162.2010.

A PPAR- γ pro12ala polimorfizmusának vizsgálata, összefüggése a szérumszintű TNF- α és SFAS szintekkel, klinikai tünetekkel allergiás rhinitisben

Kraxner H., **Krasznai M.**, Vargha E., Kozma G., Mezei Gy., Cserhádi E., Répássy G., Cseh K.

Fül-orr-gégegyógyászat, 56: 3, p.162.2010.

előadások

Rhinitisek típusai és differenciál diagnosztika

FESS tanfolyamon előadás (2006)

Rhinitis allergica

Krasznai M.

Kötelező szintentartó tanfolyam 2007

Rhinitisek differenciált diagnosztikája és terápiája

Krasznai M.

FESS tanfolyam 2007

Rhinitisek differenciált diagnosztikája és terápiája

Krasznai M.

FESS tanfolyam 2008

Rhinitis allergica tünetei és kiváltó okai

Krasznai M.

Kötelező tanfolyam 2008

Sürgősségi betegellátás a fül-orr-gégegyógyászatban

Krasznai M.

Magyar Mentő és Mentőtiszti Egyesület és az Országos Mentőszolgálat
Továbbképző konferenciája

2008. augusztus 28-30. Club Aliga

A TNF- α promoter-238, -308 G/A és TLR-4 gén Asp299Gly és
Thr399Ile polimorfizmusainak kapcsolata a szérum TNF- α és a sFAS
szintekkel allergiás rhinitisben

Krasznai M., Kraxner H, Vargha E, Kozma G, Mezei Gy, Cserhádi E,
Szaniszló K, Répássy G, Cseh K

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-, Nyaksebész Orvosok Egyesülete 40.

Jubileumi Kongresszusa

Nemzetközi részvétellel

2008. október 15-18

A desloratadine helye az allergiás rhinitis terápiájában

Krasznai M.

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-, Nyaksebész Orvosok Egyesülete
Tudományos Ülés

2009.04.25

Rhinitis allergica modern kezelése napjainkban

Krasznai M.

Kötelező tanfolyam 2011