

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Genomic and Genetic Analysis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Inflammatory Bowel Diseases

Póliska Szilárd

Témavezető: Dr. Nagy László



DEBRECENI EGYETEM

Molekuláris Sejt- és Immunbiológia Doktori Iskola

Debrecen, 2011

Genomic and Genetic Analysis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Inflammatory Bowel Diseases

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
az elméleti orvostudományok tudományágban

Írta:

Pólsika Szilárd
okleveles biológus

Készült a

Debreceni Egyetem

Molekuláris Sejt- és Immunbiológia
doktori iskolája keretében

Témavezető: Dr. Nagy László

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Ádány Róza
tagok: Prof. Dr. Balázs Margit
Dr. Prohászka Zoltán

A doktori szigorlat időpontja: 2011. Szeptember 6.

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Zeher Margit
Dr. Vladimir Benes

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Ádány Róza
tagok: Prof. Dr. Balázs Margit
Dr. Prohászka Zoltán
Prof. Dr. Zeher Margit
Dr. Vladimir Benes

Az értekezés védésének időpontja: 2011. Szeptember 6. 13:00

I. sz. Belgyógyászati Klinika Tanterme

1 BEVEZTÉS

Az elmúlt harminc évben a krónikus gyulladásos betegségek előfordulása növekvő tendenciát mutatott, világszerte több millió embert érintve, emelt terhet ró az egészségügyi ellátásra mind az iparosodott mind a fejlődő országokban. A kóros elváltozások ezen csoportjába tartoznak az allergiás megbetegedések (asztna, ekcéma), az autoimmun eredetű betegségek (rheumatoid arthritis (RA), pikkelysömör és a gyulladásos bélbetegségek (IBD)), a krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) és a neurodegeneratív betegségek. Ezen kórképek kialakulásának általános oka közös, egy szabályozatlan gyulladásos folyamat, amely specifikus szerveket/szervrendszereket érint, vagy szisztémás gyulladást okoz.

A genetikai hajlam egy fontos tényező a krónikus gyulladásos betegségek kialakulásában, ezért nagyon fontos olyan kromoszómális lokuszok azonosítása, amelyek valamely betegséggel asszociálódnak. A genetikai vizsgálatok segíthetnek a gyulladásos folyamatok patomechanizmusának megismerésében, illetve új terápiás célpontok azonosításban, valamint a betegségre való hajlam predikciójában. A humán genom megszekvenálása lehetővé tette a genetikai variabilitás, mint például az egynukleotidás polimorfizmusok (SNP) és a kópiaszám változások globális vizsgálatát. A genomikai technológiák fejlődésével, a microarray technológia szélekörű alkalmazása révén a globális génexpressziós vizsgálatok kivitelezése lehetővé vált. Ezáltal betegség-specifikus génexpressziós mintázatok, illetve szövetek vagy sejtek transzkriptómja vizsgálható.

1.1 COPD

Napjainkban a COPD az egyik fő halálozási ok Európában, amely az előrejelzések szerint 2020-ra a halálozások harmadik és a morbiditás ötödik leggyakoribb oka lesz világszerte. Az Európai Tüdőgyógyász Társaság adatai szerint az életkorral korrigált halálozási arány a férfiak esetében Magyarországon a legmagasabb az Európai Unió és a közép-kelet-európai országok között.

Az utóbbi években a légúti megbetegedések patomechanizmusát extenzíven vizsgálták. A COPD és az asztna is a légutak krónikus gyulladásos kórképe, azonban sok

különbség mutatkozik a gyulladás által érintett terület és gyulladásos folyamatban résztvevő sejttípusok között. Amíg az asztmában folytatott kutatások eredményeként új, hatékony terápiás célpontokat határoztak meg, addig a COPD-ben a betegség kialakulásához vezető molekuláris mechanizmusok, valamint hatékony kezelés kevésbé ismert.

A COPD a kis légutak lassú, fokozatos elzáródásával jellemezhető. Ez a folyamat nagymértékben irreverzibilis, szemben az asztmával, ahol légúti elzáródás általában reverzibilis. A káros részecskékkel, gázokkal szembeni kóros gyulladásos válasz jelentősen hozzájárul a légúti elzáródás kialakulásához. A COPD fenotípusai között találhatók a tüdőátágulás, a krónikus bronchitisz és kis légúti betegségek, a legtöbb betegnél ezek különböző kombinációja jelenik meg.

A COPD kialakulásához több tényező is hozzájárulhat, az élet- és munkakörülmények, a környezetszennyezés és az öregedés, de legnagyobb kockázati tényező a dohányzás. Mivel a dohányosnak csak 15-20%-ban fejlődik ki a betegség, ezért a genetikai hajlam is fontos tényező lehet a COPD patogenezisében.

A COPD egy komplex gyulladásos betegség, amely kialakulásában gyulladásos sejtek több típusa érintett, mint például alveoláris makrofágok, neutrofilek, dendritikus sejtek, T-limfociták és B-limfociták, melyek megnövekedett számban figyelhetők meg alveolusokban és a kis légutakban. Az érintett sejttípusok közül úgy tűnik, az alveoláris makrofágok játszanak központi szerepet a COPD patogenezisében és a gyulladásos folyamat fenntartásában. Dohányzás hatására számuk jelentős növekedést mutat, valamint megfigyelhető a prekursor sejttípus, a monocita, csontvelőből, illetve perifériás vérből történő 'homing-ja' a tüdőbe. Az aktivált alveoláris makrofágok számos gyulladásos mediátort választanak ki (kemokinek, citokinek, növekedési faktorok, lipid mediátorok és reaktív oxigén és nitrogén gyökök).

Habár a gyulladás egy előnyös védelmi válasz a kórokozók és a külső ingerek ellen, ha azonban kontrollálatlanná válik, olyan krónikus gyulladásos kórképek kialakulásához vezet, mint például a RA, a 2-es típusú cukorbetegség, a szklerózis multiplex vagy a COPD. Ebben a folyamatban a szignalizációs mediátorok komplex hálózata vesz részt, amelyek nagy részét két transzkripciós faktor, a nukleáris faktor κB (NF- κB) és aktivátor fehérje 1 (AP-1) szabályozza. A transzkripciós faktorok egy másik

családja, a sejtmag receptorok is fontos szerepet játszanak a gyulladásos mediátorok transzkripció szabályozásában, főként a gyulladásos válasz negatív regulációjában, mint például, a glukokortikoid receptor és peroxiszóma proliferator-aktivált receptor gamma (PPAR γ).

A PPAR γ -nak négy 'splicing' variánsa ismert, a PPAR γ 1, PPAR γ 2, PPAR γ 3 és PPAR γ 4, amelyek részben szövet-specifikus expressziót mutatnak. A PPAR γ nagymértékben expresszálódik a zsírszövetben, de kifejeződik sok más szövetben és sejtípusban is, például a tüdőben és az alveoláris makrofágokban. Természetes eredetű ligandjai lehetnek különböző zsírsav származékok, mint például a 15-dezoxi- Δ 12, 14-prostaglandin J2 (15d-PGJ2), szintetikus aktivátorai közzé tartoznak az inzulin érzékenységet fokozó tiazolidinedionok, például a roziglitazon. Ligand általi aktivációján keresztül központi szerepet játszik az adipogenesisben, a celluláris energiahomeosztázis szabályozásában, valamint intracelluláris inzulin szenzorként funkcionál, részt vesz az alternatív makrofág aktivációban és a dendritikus sejtek funkciójának regulációjában. A PPAR γ rendelkezik egy gyulladáscsökkentő hatással is, amelyet az NF- κ B és az AP-1 transzkripció faktorok gátlásán, illetve anti-inflammatorikus gének transzkripció aktiválásán keresztül fejt ki.

A környezeti tényezők és a genetikai hajlam egymással kölcsönhatva járulnak hozzá a komplex gyulladásos betegségek, mint például a COPD kialakulásához. Genetikai asszociációs kutatásokban számos olyan gént és ezen gének SNP-it azonosítottak, amelyek részt vesznek a COPD patogenezisében. Mivel a proteáz-antiproteáz és oxidáns-antioxidáns egyensúly eltolódása fontos szerepet játszik a COPD kialakulásában, a legtöbb ismert COPD-asszociált gén funkciója korrelál ezzel a két útvonallal. Emelett több potenciális kandidáns gén fontos szerepet játszik a gyulladásban és az immunválaszban.

A SERPINE2 gén egy szerin peptidáz gátló, amelynek szerepe lehet a COPD kialakulásában. A SERPINE2 több SNP-je is szignifikáns összefüggést mutatott két nagy észak-amerikai vizsgálatban, a Boston early-onset COPD és NETT kohorszokban. Azonban az európai COPD kohorszok eset-kontroll vizsgálataiban ezeket az összefüggéseket nem tudták igazolni, ami megkérdőjelezi a korábbi vizsgálatok eredményeinek statisztikai erejét, illetve felveti a polimorfizmusok eltérő geográfiai

eloszlását.

A mikroszómális epoxid hidroláz (EPHX1) a xenobiotikus vegyületek anyagcseréjében és detoxifikálásban érintett enzim, valamint fontos szerepet játszik a tüdő az oxidatív stressz elleni védelemében. Több polimorfizmusa közül két, viszonylag gyakori SNP, a harmadik exonon a Tyr113His (rs1051740) és negyedik exonon His139Arg (rs2234922) lokalizálódó változatok a leggyakrabban vizsgáltak. Ez a két allél befolyásolja az EPHX1 enzim működését, a Tyr113 → His csere egy csökkentett (lassú allél), míg His139 → Arg csere egy növekedett (gyors allél) enzimaktivitást okoz. A lassú allélról kimutatták, hogy gyakoribb a COPD-ben szenvedő betegekben.

A tumor nekrozis faktor alfa (TNF- α) kulcsfontosságú faktor a gyulladásos folyamatok inicializálásban és fenntartásában. Eset-kontroll vizsgálatokban a TNF- α több polimorfizmusát is vizsgálták, de a leginkább tanulmányozott egy promóter variáns (-308G>A), amely a TNF- α gén növekedett expresszióját okozza. Tajvani és japán kohorszokban a -308G>A SNP asszociálódott a krónikus bronchitisz és a tüdőtagulás súlyosságával, de kaukázusi populációkra ez az asszociáció nem jellemző.

A szurfaktáns proteinek az alveolusokban a felületi feszültség szabályozásában töltenek be fontos szerepet, de szerepük van a gyulladásos folyamatok kontrollálásában is. A szurfaktáns B protein (SFTBP) egy aminosav cserével járó (Thr131Ile) polimorfizmusát kapcsolatba hozták a COPD-vel, mint kockázati faktor, a Boston early-onset COPD kohorszon és egy mexikói kohorszon végzett vizsgálatban.

Mivel a PPAR γ különböző autoimmun betegségek gyulladásos folyamatának szabályozásában érintett, ezért polimorfizmusai genetikai hajlamosító tényezők lehetnek, leginkább a 2-es típusú diabétesszel kapcsolatban vizsgálták SNP-it. A PPAR γ , Pro12Ala polimorfizmusának ritka allélja, amely a fehérje alacsonyabb affinitássú kötődését okozza a receptor válszadó eleméhez, alacsonyabb testtömeg-index-szel, növekedett inzulinérzékenységgel és a 2-es típusú diabétesz csökkent kockázatával asszociálódott. Asztmában három SNP-jét vizsgálták (Pro12Ala, His447His, és C-681G), a Pro12Ala és His447His SNP-ék gyakori alléljainak kombinációja összefüggésbe hozható asztma súlyosbodásával. Egy másik vizsgálatban ez a haplotípus kombináció aszpirin érzékenységgel mutatott asszociációt asztmás betegek esetében.

A közelmúltban számos vizsgálatban alkalmaztak globális génexpressziós profilozást új, a COPD patomechanizmusához kapcsolódó útvonalak azonosítására. A különböző vizsgálatokban azonosított géncsoportok között azonban minimális az átfedés. A különbségeket számos tényező okozhatja, például eltérések a mintagyűjtésben, a vizsgált szövet vagy sejt eredetében, a használt génexpressziós platform típusában. Mindezen eltérések ellenére az eredmények hasznos információt nyújthatnak a COPD patomechanizmusának megismerése felé.

1.2 IBD

Az IBD, egy a tápcsatornát érintő autoimmun eredetű krónikus gyulladásos betegség. Klinikailag két fő fenotípusba sorolják: colitis ulcerosa (UC) és a Crohn-betegség (CD). UC-t diffúz nyálkahártya-gyulladás jellemzi, amely a végbélből proximálisan különböző mértékben terjed ki, jellemző a neutrofilek számának jelentős megnövekedése, amely a lamina propriában mikro-tályogok kialakulását okozza. A súlyos gyulladásos folyamat, valamint a gyulladásos mediátorok megnövekedett szintézise a nyálkahártya kiterjedt fekélyes gyulladásához vezet. A CD esetén a gyulladás általában transzmurális, a gyomor-bél traktus bármely része érintett lehet, de a terminális ileum érintettsége a leggyakoribb. A legkorábbi nyálkahártya-elváltozások gyakran a Peyer-plakkok körül jelennek meg. Jellemző a makrofágok számának megnövekedése, amelyek 'non-caseosus' granulomákba tömörülnek.

Az elmúlt években a CD és az UC is egyre nagyobb incidenciát mutatott Európában. Bár a betegségek etiológiája még mindig ismeretlen, az alapvető okuk jobban ismert; a nyálkahártya nem-regulált immunválasza a normál bélflóra ellen a genetikailag fogékony betegekben.

Több vizsgálat is igazolta, hogy a genetikai háttér fontos tényező az IBD kialakulásában. A legújabb genetikai asszociációs vizsgálatok több új hajlamosító gént és kromoszóma lókuszt azonosítottak a CD-vel vagy UC-val kapcsolatban, például NOD2/CARD15, IL23R vagy ATG16L1. A NOD2/CARD15 a baktériumokból származó lipopolysaccharid és peptidoglycan sejten belüli felismerésében vesz részt, valamint szerepet játszik a veleszületett immunválasz jelátviteli mechanizmusában. Az IL23 túltermelés rendellenes immunválaszt válthat ki a mikrobiák elleni védekező

folyamatokban, továbbá az IL23 depléción során csökkent gyulladásos választ mutattak ki a bélben.

PPAR γ expressziója jelentős a vastagbélben, főleg a hámsejtekben, ezért fontos szerepe lehet a vastagbél a normál és patológiás folyamatainak szabályozásában. A PPAR γ gyulladásos folyamatokban betöltött szerepét kémiai ágenssel indukált colitises egér modellen vizsgálták. Továbbá az 5-aminoszalicilsav, amely az IBD kezelésében széleskörben használt gyulladáscsökkentő szer, a PPAR γ ligandja, valamint a roziglitazon klinikai hatásvizsgálatokban hatékonynak bizonyult az UC kezelésében. Annak ellenére, hogy a PPAR γ -nak fontos szerepe van a gyulladásos folyamatok represszáálásban, ezidáig csak kevés asszociációs vizsgálatban tanulmányozták polimorfizmusait az IBD-vel kapcsolatban.

2 CÉLKITŰZÉSEK

Mivel a COPD és az IBD gyakorisága egyre nagyobb Magyarországon az utóbbi években mivel kevés átfogó tanulmány készült, fontosnak tartottuk, hogy a hazai beteg és egészséges kontroll csoportokat globális génexpressziós és genetikai asszociációs tanulmányokban vizsgáljuk.

A vizsgálataink célkitűzései.

- a dohányzás által kiváltott COPD-ben alveoláris makrofágok globális génexpressziós vizsgálata, a már ismert COPD asszociált gének listájának bővítése és validálása.
- potenciális génexpressziós biomarkerek azonosítása és validálása a perifériás vérből származó monocitákban, a COPD-specifikus génexpressziós mintázatok összehasonlítása az alveoláris makrofágok és perifériás monociták között
- génexpressziós mintázatok és klinikai paraméterek korrelációjának vizsgálata.
- EPHX1, SERPINE2, TNF- α és SFTBP polimorfizmusok asszociációjának vizsgálata COPD-ben a magyar beteg/kontroll csoporton.
- PPAR γ , mint új kandidáns gén, polimorfizmusainak asszociációs vizsgálata (rs10801282 (Pro12Ala), rs3856806 (His447His) és rs1800571 (Pro113Gln)) COPD eset-kontroll tanulmányban.
- PPAR γ négy polimorfizmusának vizsgálata (rs10865710 (C-681G), rs2067819, rs3892175 and Pro12Ala) magyar CD és UC betegek kohorszokon.

3 MÓDSZEREK

3.1 Beleegyező nyilatkozat

A Debreceni Egyetem Orvos-és Egészségtudományi Centrum Etikai Bizottsággal jóváhagyta a protokollt és a klinikai tanulmányt. Minden a vizsgálatban résztvevő egészséges és beteg egyén a kaukázusi rasszba tartozik, a klinikusok minden pácienset tájékoztattak a vizsgálat természetéről és céljáról és az összes, vizsgálatban résztvevő egyén aláírta a beleegyező nyilatkozatot.

3.1.1 BEVÁLOGATÁSI/KIZÁRÁSI KRITÉRIUMOK A COPD TANULMÁNYBAN

A beteg és egészséges páciensek beválogatási/kizárási kritériumait a mintavétel megkezdése előtt a klinikusok meghatározták. Az összes vizsgált egyén 40 és 65 éves korú volt. A COPD-s betegek légzésfunkció paraméterei: $FEV1 < 80\%$ és $FEV1/FVC\% < 70\%$. A kontroll páciensek légzésfunkció paraméterei: $FEV1 \geq 80\%$ és $FEV1/FVC\% \geq 70\%$. A kontroll pácienseknél kizárási kritériumként szerepelt a rákos megbetegedés, IBD és más krónikus gyulladásos vagy autoimmun eredetű betegség (pl. RA, psoriasis, SLE) diagnózisa.

3.1.2 BEVÁLOGATÁSI/KIZÁRÁSI KRITÉRIUMOK AZ IBD TANULMÁNYBAN

A vizsgálatban 675 jól jellemzett IBD-s betegek vett részt, a mintagyűjtés a Magyar IBD Study Group négy központjában történt. A diagnózis megfelelt a Lennard-Jones kritériumoknak, a betegség fenotípus meghatározása a Montreal klasszifikációt követte. Csak olyan betegek bevonása történt meg, akiknél a betegséget több mint 1 éve diagnosztizálták.

486, a nemek arányban és életkorban megegyező egészséges (véradó) egyén alkotta a kontroll csoportot.

3.2 Alveoláris makrofág és perifériás vér monocita szeparálás

Bronchoszkópiás vizsgálat során bronchoalveoláris lavage folyadék (BALF) mintát vettünk egészséges kontroll és COPD-s betegekből. Az alveoláris makrofágokat Percoll (Amersham Biosciences) gradiens centrifugálással szeparáltuk. A perifériás monocitákat 50 ml heparin kezelt vérből szeparáltuk egy kétlépcsős módszerrel, 1) a mononukleáris sejteket Ficoll gradiens centrifugálással szeparáltuk, majd 2) a monocitákat pozitív szelekcióval anti-CD14 antitesttel konjugált mágneses gyöngyök segítségével választottuk el.

3.3 RNS és microarray kísérlet

RNeasy Mini Kit-tel totál RNS-t izoláltunk az alveoláris makrofág és a perifériás monocita mintákból. RNS integritását Agilent Bioanalyser 2100-on ellenőriztük, a koncentráció meghatározására NanoDrop ND-1000 használtunk. A globális génexpressziós vizsgálathoz Affymetrix HG-U133A típusú microarray használtunk, amelyen 22283 gén expressziós elemzése végezhető el. Komplementer DNS-t (cDNS) 5 µg totál RNS-ből szintetizáltuk a SuperScript choice system használatával. A biotin jelölt cRNS szintézishez BioArray™ HighYield™ RNA Trnsript Kit (T7)-t használtuk, a minták hibridizálása és szkennelése az EMBL Genomics Core Facility-ben (Heidelberg) történt. Az alveoláris makrofág RNS minták esetében 5 kontroll és 5 COPD-s minta hibridizációja történt, a monocita minták esetében 5 kontroll mintából egy kontroll RNS mixet illetve 5 COPD-s mintából egy COPD RNS mixet hoztunk létre és a mixeket hibridizáltattuk 1-1 microarrayre. A microarray adatokat GeneSpring 7.3 szoftver segítségével elemeztük.

3.4 TaqMan mRNS RT-qPCR

Annak érdekében, hogy megerősítsük a microarray elemzés eredményét real-time quantitative PCR (RT-QPCR) méréseket végeztünk ABI Prism 7900 HT készüléken. A relatív génexpressziós szinteket $\Delta\Delta C_t$ módszerrel határoztuk meg, a GAPDH gént használtuk belső kontrollként. A statisztikai elemzést GraphPad Prism szoftverrel végeztük.

3.5 Kanonikus variáns elemzés (CVA)

A CVA alkalmas csoportok közötti diszkriminációs erő meghatározására adott paraméterek alapján. CVA-t alkalmazva megvizsgáltuk, hogy a COPD és kontroll csoportok között különböző expressziós mintázatot mutató gének milyen mértékben különböztetik el a COPD és kontroll pácienseket. Az CVA eredménye a kanonikus függvényekből származó kanonikus pontszámok.

3.6 DNS izolálás

EDTA-t tartalmazó vacutainer csőben vérmintákat gyűjtöttünk egészséges és beteg egyénekből. Genomiális DNS-t 0,5 ml teljes vérből Roche Magna Pure LC készüléken, Magna Pure LC DNS Isolation Kit felhasználásával a gyártó által ajánlott protokoll alapján izoláltunk. A DNS koncentrációt NanoDrop ND1000 készüléken határoztuk meg.

3.7 SNP genotipizálás

A vizsgált SNP-k genotipizálásra TaqMan SNP genotipizáló assay-eket használtunk. A méréseket ABI Prism 7900 HT készüléken végeztünk, a genotípusokat az SDS 2.1 szoftver segítségével határoztuk meg. Az átlagos genotipizálási siker mértéke legalább 95%-t elért minden egyes vizsgált SNP esetében.

A beteg és kontroll csoportok klinikai adatainak statisztikai elemzésére Mann-Whitney U-tesztet, illetve Pearson χ^2 tesztet használtunk. A genotípus adatok alapján minden SNP esetében ellenőriztük, hogy a vizsgált populációk, külön a kontroll és külön a beteg, tartják-e a Hardy-Weinberg egyensúlyt ('goodness of fit' χ^2 -teszt). A HWE számításokat egy elektronikusan elérhető HWE kalkulátorral számoltuk ki <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.

Az allélok közötti kapcsoltságot valamint a lehetséges haplotípus kombinációkat, külön a kontroll és külön a beteg populációkra a SHEsis szoftver 'Full-Precise-Iteration' algoritmusával határoztuk meg (<http://analysis.bio-x.cn/myAnalysis.php>). A többszörös

tesztelésből adódó statisztikai hiba kiszűrésére konzervatív Bonferroni korrekciót alkalmaztunk. A Quanto szoftver (<http://hydra.usc.edu.gxe>) használtavál számoltuk ki a vizsgálat eredményeinek várható megbízhatóságát.

4 EREDMÉNYEK

4.1 A COPD génexpressziós elemzése

A kontroll és a COPD csoportok között az életkort és a dohányzási szokásokat tekintve nem volt különbség, de szignifikánsan különböztek a tüdőfunkció paraméterek és CRP-szint.

5 kontroll és 5 COPD-s aktív dohányos páciens BALF mintájából alveoláris makrofogokat izoláltunk, majd RNS izolálás után globális génexpressziós profilírozást végeztünk. Azonosítottunk egy 671 próbát/389 gént reprezentáló listát, amely szignifikáns génexpressziós különbséget mutatott a beteg és a kontroll csoportok között. Hierarchikus klaszter elemzést végezve ez a lista teljesen elválasztotta a kontroll és a COPD-s pácienseket.

Az általunk meghatározott génlista tartalmazott számos korábban más microarray tanulmányokban azonosított, a COPD patomechanizmusához kapcsolódó gént. Például a CYP1B1-t, egy citokróm P450 enzimet, amely expressziója a cigarettafüst hatására megemelkedik a tüdőben; tovább a kemokin ligand 2-öt, osteopontint (SPP1), IL-8 és IL-1 β citokineket, amelyek az immunválaszban és kemotaxisban fontos szerepet játszó gének. Korábbi microarray vizsgálatok ezen gének megnövekedett expresszióját mutatták ki COPD-s mintákban. Ezek az eredmények validálják a mintagyűjtésünk megbízhatóságát, megerősítik az új eredményeink hitelességét, amelyek potenciális biomarkerek lehetnek, illetve hozzájárulhatnak a COPD patomechanizmusának jobb megismeréséhez.

Az azonosított 389 gén génontológiai (GO) elemzése megerősíti a fenti megállapításokat. A GO analízisben azonosított útvonalak korrelálnak a COPD patogenezisével és a gyulladásos folyamatokkal.

Annak érdekében, hogy validáljuk a microarray eredményeket, RT-QPCR technikával meghatároztuk 96 kiválasztott gén expressziós szintjét. Egydi TLDA-t terveztünk, amely 4 normalizáló gént, 23 már az irodalomból ismert gént, és 69 a microarray kísérletünkéből kiválasztott gént tartalmazott. A méréseket független mintákon végeztük el, 26 COPD-s és 20 egészséges kontroll pácienset vontunk be a vizsgálatba,

akik aktív, vagy ex-dohányosok voltak.

Huszonnégy gén expressziós mintázata tért el szignifikánsan a COPD-s és kontroll csoportok között. Huszonhárom gén esetében a mintázatok megegyeztek a microarray és az RT-QPCR mérések között. Egy független statisztikai elemzést, CVA-t alkalmazva ez a 23 gén elválasztja a COPD-s és kontroll pácienseket, a diszkriminatív erő szignifikáns ($\chi^2 = 34,25$, d.f. = 20, $p = 0,05$, Wilks $\lambda = 0,365$).

A továbbiakban a perifériás monociták génexpressziós vizsgálatát végeztük el COPD-s és kontroll mintákon. A monocitákat perifériás vérből szeparáltuk, majd az RNS izolálás után 5-5 COPD-s és kontroll páciens mintájából egy COPD-s és egy kontroll RNS mixet hoztunk létre, és microarray analízist végeztünk. 555 próbát/356 gént azonosítottunk, amelyek legalább 1,5 szerez változást mutattak a COPD-s és a kontroll minta között. Összehasonlítottuk az eredményeket az alveoláris makrofág kísérlet eredményeivel és 54 próbát/35 gént találtunk, amelyek átfedtek a két sejttípus között. GO elemzés után az azonosított útvonalak között is számos átfedést fedeztünk fel az alveoláris makrofág GO eredményeivel.

A 35 közös gén validáláshoz ebben az esetben is RT-QPCR-t használtunk, 22 COPD-s és 16 kontroll páciens monocita mintáján (13 COPD-s és 7 kontroll páciens újonnan beválogatott egyén volt). Az RT-QPCR elemzésben a 35 vizsgált génből 5 olyan gént találtunk, amelyek szignifikáns különbséget mutatattak a COPD-s betegek és a kontroll páciensek között (ADAM10, GK, IFRD1, PHLDA1 és SEC14L1 gének). CVA-t alkalmazva ezen 5 gén kombinációja elválasztja a COPD-s és a kontroll betegeket ($\chi^2 = 14,75$, d.f. = 5, $p = 0,05$, Wilks $\lambda = 0,617$).

Az eredményeink megerősítik a hipotézisünket, miszerint a perifériás monociták génexpressziós mintázata korrelálhat a COPD-vel és átfed az alveoláris makrofágok COPD-specifikus mintázatával.

Potenciális biomarkerek azonosítása során fontos kérdés, hogy a betegség-specifikus génexpressziós mintázatok korrelálthatóak-e a betegségre jellemző klinikai paraméterekkel. A COPD a légzésfunkció fokozatos csökkenésével jellemezhető, a diagnózis az egyik legfontosabb paramétere a légzésfunkció mérése. Megvizsgáltuk, hogy az RT-QPCR-ral validált gének expressziós szintjei hogyan korrelálnak a páciensek FEV1% értékeivel. Az alveoláris makrofágokban azonosított 23 gén korrelációs elemzése

után azt találtuk, hogy CCR1, GDF15 and SLC2A3 gének magasabb expressziós szintje a FEV1% értékek csökkenésével, míg az FN1 gén magasabb szintje a magasabb FEV1% értékekkel korrelált. A monocita mintákon validált ADAM10, GK, IFRD1 és SEC14L1 gének magasabb expressziós szintjei szintén a FEV1% értékek csökkenésével mutattak korrelációt, PHLDA1 gén esetében nem kaptunk szignifikáns eredményt.

4.2 SNP vizsgálatok a krónikus gyulladásos betegségek

4.2.1 SNP ASSZOCIÁCIÓS VIZSGÁLATOK COPD-BEN

A vizsálatba 573 egyént vontunk be, 272 COPD-s és 301 egészséges kontroll páciens. COPD-s betegek esetében a dohányzás mértéke magasabb volt kontrollokhoz képest, de a különbség nem szignifikáns, csak a légzésfunkció paraméterek tekintetében találtunk szignifikáns eltérés a két populáció között.

A SERPINE2, TNF- α and SFTPB gének vizsgált SNP-i HWE-t mutattak mind a COPD-s mind a kontroll populációban. Genotípus és allél frekvenciák megállapítása után nem találtunk szignifikáns eltérést a két populáció között egyik SNP esetében sem, a korábbi, más populációkon elvégzett vizsgálatokkal ellentétben.

Az EPHX1 gén vizsgált SNP-i szintén HWE-ban. Az asszociációs elmezés után az eredményeink azt mutatják, hogy ritka allél homozigóta genotípusa a Tyr113His polimorfizmus ("lassú" allél) esetében növeli, míg a His139Arg SNP ("gyors" allél) esetében a ritka allél csökkenti a COPD kialakulását. Habár az asszociáció egyik esetben sem szignifikáns, a nemi arányokkal, életkorral és dohányzási szokásokkal korrigált logisztikus regressziós elemzés után sem.

Kapcsoltsági elemzés után megállapítottuk, hogy a két lókuszt teljes kapcsoltságban van. Ezért haplotípus vizsgálatban megvizsgáltuk a prediktált EPHX1 fenotípusok ("gyors", "normális", "lassú" és "rendkívül lassú") eloszlásának arányát a COPD-s és kontroll populációk között. A prediktált EPHX1 fenotípusok eloszlása szignifikáns különbséget mutatott a kontroll alanyok és COPD-s betegek ($p = 0,041$) között. A "lassú" fenotípus nagyobb arányban fordult elő a COPD-s csoportban tehát a "lassú" fenotípus jelentősen növeli a COPD kialakulásának kockázatát ($p = 0,021$) az általunk vizsgált populációban.

A vizsgálatunkban a PPAR γ gén három SNP-jét (rs10801282 (Pro12Ala), rs3856806 (His447His) és rs1800571 (Pro113Gln)) genotipizáltuk. Az mérések után rs1800571 SNP homozigóta volt a gyakori C allélra, mind a COPD-s mind a kontroll csoportban, ezért a továbbiakban kihagytuk az elemzésből. A másik két SNP HWE-ban volt és kismértékű kapcsolttságot mutatott ($D' = 0,673$, korrelációs együttható $r^2 = 0,42$).

Az egy lókuszos analízisben egyik allél esetében sem találtunk szignifikáns kapcsolatot a két PPAR γ polimorfizmus és COPD között. A logisztikus regressziós modell alkalmazásával, az életkorral és dohányzási szokással korrigálva, a His447His polimorfizmus ritka változata szignifikáns összefüggést mutatott a COPD-vel.

A haplotípus analízis során meghatároztuk a két SNP lehetséges haplotípusait és azok frekvenciáit a vizsgált kohortokban, majd asszociációs vizsgálatot végtünk a GC haplotípus amely a Pro12Ala SNP ritka allélját hordozza szignifikánsan magasabb gyakoriságot mutatott a kontroll populációban, tehát a PPAR γ gén GC (12Ala/447His) haplotípusának potenciálisan védő hatása van a COPD-vel szemben.

4.2.2 A PPAR γ POLIMORFIZMUSAINAK ASSZOCIÁCIÓS VIZSGÁLATA IBD-BEN

A Magyar IBD Study Group négy központjából származó 572 CD, 103 UC és 486 egészséges kontroll páciens DNS mintáját felhasználva a PPAR γ négy SNP-jét genotipizáltuk. Három SNP az első intronban a negyedik (Pro12Ala) egy alternatív exonban (exon B) lokalizálódik.

Mind a három kohorszban megvizsgáltuk, hogy a polimorfizmusok HWE-ban vannak-e, az összes vizsgált lókuszt megfelelt a HWE-nek. Az egy lókuszos analízisben az allél és genotípus frekvenciák nem különböztek szignifikánsan a kohorszok között. Bár a Pro12Ala polimorfizmus ritka GG (Ala/Ala) genotípusa ritkább volt a CD csoportban a kontrollokhoz hasonlítva, de nem szignifikáns szinten. Abban az esetben viszont, amikor a CD és kontroll csoport között a gyakori homozigóta (Pro/Pro) és ritka homozigóta (Ala/Ala) genotípusok eloszlását egyszerre hasonlítottuk össze, szignifikáns összefüggést találtunk, amely az sugallja, hogy az Ala allél homozigóta formája védőhatású a CD-vel szemben. UC esetében azonban ez az összefüggés nem mutatható ki. Annak ellenére, hogy a CD és UC kohorszok között jelentős méretbeni különbség van az allél frekvenciák nem különböztek a két betegcsoport között.

A kapcsoltsági analízis kimutatta, hogy a négy polimorfizmus között erős kapcsoltság van, ami lehetővé teszi a haplotípus analízis elemzését. Meghatároztuk a lehetséges haplotípus kombinációkat mind a beteg mind a kontroll populációkban és elvégeztük az asszociációs elemzést.

A CD kohorszban a GAGG haplotípus, amely a Pro12Ala polimorfizmus a ritka Ala allélját tartalmazza, alacsonyabb frekvenciával volt jelen kontroll csoporthoz képest ($P = 0.028$), habár a szigorú Bonferroni korrekció után az asszociáció szignifikanciája lecsökkent ($P_{\text{korrigált}} = 0,11$), ez az eredmény tovább erősíti az Ala allél potenciális protektív hatását.

Az UC csoport esetében három haplotípus mutatott szignifikáns összefüggést a betegséggel. Érdekes, hogy a négy gyakori allélt hordozó haplotípus, a CGGC szignifikánsan nagyobb gyakorisággal fordul elő a kontrollokban az UC páciensekhez képest ($P_{\text{korrigált}} = 0,025$). A GAGG haplotípus védő hatása az UC-vel szemben is kimutatható ($P_{\text{korrigált}} = 1,94 \times 10^{-4}$). Azonban, GAGC haplotípus - amelyben a Pro12Ala ritka G allélja helyett a gyakori C allél található - jelentősen növeli a UC kialakulásának kockázatát ($P_{\text{korrigált}} = 1,94 \times 10^{-9}$).

5 MEGBESZÉLÉS

A gyulladás, egy a fertőzésekkel és a szöveti sérülésekkel szembeni normál élettani válasz, része az immunrendszer védekezési mechanizmusának. Az egészséges homeosztázis fenntartása érdekében a gyulladásos válasz szigorú szabályozása elengedhetetlen. Akut gyulladás során gyulladáscsökkentő citokinek szintézisével és regulátor immunsejtek kemotaxisával a negatív visszacsatolási mechanizmusok aktiválódnak. A nem szabályozott gyulladásos folyamatok krónikus gyulladás kialakulásához vezetnek, amely több kórkép patofiziológiai hátterét képezi. A gyulladásos mediátorok megemelkedett szintje tovább erősítheti a kóros gyulladásos választ, amely szövetkárosodáshoz, számos klinikai tünet megjelenéséhez, valamint a betegség súlyosbodó progressziójához vezet. Krónikus gyulladásos betegségekben a betegség-specifikus markerek, valamint a betegség stádiumok megkülönböztetése rendkívül fontos.

A környezeti tényezők és a genetikai hajlam közösen járulnak hozzá a komplex betegségek kialakulásához. A genomikai technológiák fejlődése, például a microarray és az újgenerációs szekvenálási technológia lehetőséget ad arra, hogy globális génexpressziós és genom szintű asszociációs vizsgálatokat végezzünk.

Vizsgálatunkban az alveoláris makrofág sejtek globális génexpressziós elemzését végeztük el. Kibővítettük a már ismert COPD patomechanizmusához kapcsolt gének listáját. Megvizsgáltuk az alveoláris makrofágok és perifériás monociták között átfedő COPD-specifikus génexpressziós mintázatokat, valamint légzésfunkció paraméterrel korreláló expressziós profilokat azonosítottunk. Genetikai asszociációs vizsgálatban a PPAR γ polimorfizmusait vizsgáltuk COPD-s és IBD-s kohorszokban.

A COPD egy elsőleges példája egy hosszantartó krónikus betegségnek, amelynek a légzésfunkciós vizsgálatokon kívül nincs más validált klinikai paramétere és nincs jól definiált biomarkere. Korábban számos tanulmány vizsgálta a COPD patomechanizmusát mRNS szinten, a génexpressziós változásokat állatkísérletekben, sejt kultúrák modelleken primer klinikai mintákon elemezték.

A vizsgálatunkban szigorú beválogatási/kizárási kritériumok alapján végeztük a mintagyűjtést. A vizsgált során a globális génexpressziós analízist (microarray) és az

azonosított betegség-specifikus gének validálását nagyrészt független mintákon végeztük. Eredményeink arra utalnak, hogy mind az alveoláris makrofágokban mind a monocitákban azonosíthatók COPD-specifikus gének, amelyek részben átfednek. Több, az irodalomból ismert, COPD-hez kapcsolódó gén (CYP1B1, PLA2G7, CCL2, SPP1, IL-8 és IL-1 β) mellett sikerült új COPD-specifikus géneket azonosítani, amelyek expressziós mintázata markáns eltérést mutat a beteg és egészséges páciensek között. A microarray elemzés eredményeiből RT-QPCR mérésekkel 23 gént egy nagyobb független kohorszon validáltunk és tizenhárom új kandidáns gént azonosítottunk (CCR1, TREM2, GADD45A, PHLDA1 és PHLDA2, EMR3, GDF15, FPRL2, HOMER3, SLC2A3, IGSF6, PLEKHB1 PAPSS2). GO elemzés után azt találtuk, hogy ezek gének olyan funkcionális útvonalakhoz kapcsolódnak, amelyek hozzájárulhatnak a COPD patogeneziséhez.

A vizsgálatunk egyik legfontosabb eredménye az alveoláris makrofágok és progenitor sejtjeik a perifériás monociták expressziós profiljának összehasonlításából származó öt validált gén (ADAM10, PHLDA1, IFDR1, GK, SEC14L1). Ez az eredmény azt sugallja, hogy a betegség befolyásolja a gyulladás folyamatban közvetlenül résztvevő sejtnak (alveoláris makrofág), illetve előalakjának (monocita) génexpressziós mintázatát.

Az azonosított COPD-specifikus gének nemcsak a beteg/egészséges állapot elkülönítésre alkalmasak. 4 az alveoláris makrofágokban, és 4 a monocitákban validált gén expressziós mintázata korrelációt mutatott a FEV1 légzésfunkció paraméterrel, amelyre arra utal, hogy a betegség progressziója meghatározható/monitorozható génexpressziós profil alapján.

A genetikai hajlamosító tényezők fontos szerepet játszanak a krónikus gyulladásos és az autoimmun betegségek kialakulásában. A betegségre hajlamosító gének polimorfizmusainak azonosítása fontos feladat, de azonosításon túl a kandidáns SNP-k validálására is szükség. A validálás történhet egy független kohorszon elvégzett vizsgálattal, és mivel az SNP-k allél eloszlása nagy különbségeket mutathat különböző rasszok között, fontos lehet a más rasszhoz tartozó eset-kontroll tanulmány elvégzése is. Fontos a kandidáns gén biológiai funkciójának vizsgálata is. Mennyire kapcsolható az adott gén által befolyásolt funkcionális útvonal a betegség patofiziológiájához és a betegség-asszociált génváltozat, hogyan befolyásolja ezt a funkciót.

A PPAR γ -nak fontos szerepe van a gyulladásos folyamatok negatív szabályozásában, valamint korábbi tanulmányokban és klinikai vizsgálatokban PPAR γ ligandjának jótékony hatásáról számoltak be. A PPAR γ polimorfizmusainak asszociációját számos kórképben vizsgálták, metabolikus szindrómában, 2-es típusú diabéteszban, obezitásban, valamint krónikus gyulladásban is (pikkelysömör, arthritis psoriatica). Azonban csak kevés COPD-ben és IBD-ben elvégzett asszociációs vizsgálat ismert az irodalomban. Vizsgálatunkban a PPAR γ gén polimorfizmusainak asszociációját tanulmányoztuk magyar COPD-s és IBD-s kohorszokban.

A COPD-vel kapcsolatban több olyan polimorfizmust is azonosítottak, amelyek funkcionálisan is hozzájárulhatnak a betegség patofiziológiájához. Bár a COPD előfordulási rátája folyamatosan növekszik Magyarországon, genetikai asszociációs tanulmányt még nem végeztek a COPD-ben a magyar lakosság körében. A vizsgált kohorszunk validálásra az irodalomból ismert COPD-asszociált SNP-ket választottunk, amelyeket korábban már a kaukázusi populációban teszteltek. A SERPINE2, TNF- α és SFTPB gének polimorfizmusainak esetében nem találtunk asszociációt a COPD-vel. Viszont az EPHX1 prediktált fenotípusait vizsgálva a "lassú" metabolizáló fenotípus jelentősen növelte a kockázatát COPD tanulmányunkban.

A PPAR γ három SNP-jét - Pro12Ala, His447His és rs1800571 – genotipizáltuk a COPD asszociációs vizsgálatban. Az rs1800571 SNP minden páciens esetében homozigóta genotípusú volt a gyakori alléljára, ezért kizártuk a további vizsgálatból. Az egy lókuszos vizsgálat során az életkorral, nemi arányokkal és dohányzási szokással módosított logisztikus regressziós analízis után azt találtuk, hogy a His447His ritka allélja szignifikáns asszociációt mutat a COPD-vel. Habár a His447His variáns nem okoz aminosav cserét, több tanulmány rámutatott arra, hogy egyes 'synonymous' SNP-k befolyásolhatják az mRNS 'splicingot'/stabilitás és a fehérje 'foldingot'. Ezek a folyamatok jelentős hatást gyakorolhatnak a keletkező fehérje szintjére, funkciójára.

Kismértékű kapcsoltságot találtunk a Pro12Ala és His447His lókuszek között, amely alapján haplotípus vizsgálat végezhető. GC haplotípus (Pro12Ala ritka és His447His gyakori allélját tartalmazó változat) nagyobb gyakorisággal fordult elő kontroll csoportban a beteghez képest, tehát potenciálisan védő hatású lehet.

Az utóbbi években IBD előfordulási gyakorisága folyamatosan nő Kelet-

Európában, beleértve Magyarországot is, elérve a nyugat-európai országokhoz hasonló incidencia szintet. Ezért fontosnak találtuk új, az IBD-re való érzékenységet befolyásoló, genetikai kockázati tényezők vizsgálatát kelet-európai populációban. Európának erről a részéről kevés genetikai asszociációs adat ismert, de Magyarországon rendelkezésre áll egy nagy és jól jellemzett IBD kohorsz, amelyen korábban, több IBD-hez kapcsolódó SNP vizsgálata megtörtént (NOD2/CARD15, TLR4, ATG16L1 és az IL-23R).

Vizsgálatunkban a PPAR γ négy, korábban már más asszociációs tanulmányokban vizsgált polimorfizmusának (C-681G, rs2067819, rs3892175 és Pro12Ala) asszociációját vizsgáltuk a magyar IBD kohorszban. A C-681G, rs2067819 és rs3892175 polimorfizmusok esetében nem találtunk szignifikáns különbséget az allélgyakoriság eloszlásában a CD/UC beteg csoportok és a kontroll csoport között. A Pro12Ala SNP ritka homozigóta variánsa (Ala/Ala) szignifikánsan alacsonyabb frekvenciával fordult elő a CD betegekben a kontrollokhoz képest, tehát ez aa genotípus potenciálisan védő hatású a betegség kialakulásával szemben.

A négy SNP között szoros kapcsoltság van, ezért megvizsgáltuk a lehetséges haplotípusok asszociációját az IBD-hez. A GAGG haplotípus, amely a Pro12Ala ritka Ala allélját tartalmazza, nagyobb gyakorisággal fordult elő a kontroll csoportban, mint a CD és UC beteg csoportokban, tovább erősítve az Ala allél védőhatását. Ezzel szemben a gyakori C allélt tartalmazó GAGC haplotípus növeli UC kialakulásának valószínűségét. Meglepő módon a gyakori allélok haplotípus kombinációjának (CGGC) előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt a UC betegekben, mint a kontroll csoportban.

A genetikai asszociációs vizsgálatainknak bizonyos korlátai vannak, mint például a viszonylag alacsony mintaszám, illetve korábbi populációgenetikai vizsgálatok hiánya valamely vizsgált kohorszokon. Eredményeink validáláshoz szükséges a vizsgálat megismétlése egy nagyobb független kohorszban.

6 ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során krónikus gyulladásos betegségeket vizsgáltunk genomikai és genetikai módszerekkel. Alveoláris makrofágok és perifériás monociták génexpressziós mintázatát vizsgáltuk COPD-s és egészséges kontroll mintákon. Mindkét sejttípusban azonosítottunk COPD-specifikus géneket, amelyek között átfedést találtunk. Eredményünk azt sugallj, hogy a betegség érinti az alveoláris makrofág és a progenitor perifériás monocita funkciót. CVA alapján az RT-QPCR-ral validált géncsoportok szignifikánsan elkülönítik a beteg és egészséges pácienseket, továbbá azonosítottunk génexpressziós mintázatokat, amelyek korrelációt mutatnak a FEV1 légzésfunkció paraméterrel. Eredményeink alapul szolgálhatnak további, a betegség pathomechanizmusát vizsgáló mechanisztikus tanulmányoknak, illetve az azonosított gének, a betegség progresszióját jelző biomarkerek, vagy potenciális terápiás célpontok lehetnek.

Elvégeztük az első magyar genetikai asszociációs vizsgálatot COPD-s betegeken. A kohorszunk validálásaként egy replikatív vizsgálatban öt COPD-asszociált SNP-t genotipizáltunk, amelyeket korábban már vizsgáltak kaukázusi populációban. A SERPINE2, TNF- α és SFTPB gének polimorfizmusai nem asszociálódtak a COPD-vel vizsgálatunkban, az EPHX1 prediktált fenotípusait vizsgálva az ismert irodalmi eredményekkel azonos eredményt kaptunk. A továbbiakban egy új kandidáns gén a PPAR γ gén polimorfizmusainak asszociációját vizsgáltuk a COPD-vel kapcsolatban. A haplotípus analízisben a GC haplotípus enyhe védőhatású volt, ez az eredmény azt sugallja, hogy a PPAR γ gén fontos lehet a COPD patogenezisében, valamint potenciális terápiás célpont lehet.

A PPAR γ polimorfizmusait egy másik krónikus gyulladásos betegségben is megvizsgáltuk, egy jól jellemzett magyar IBD kohorszon. A Pro12Ala ritka Ala alléja védő hatást mutatott a CD kialakulásával szemben az egy lókuszos elemzésben, ezt az eredményt a haplotípus analízis tovább erősítette. Azonban nem sikerült megismételni a korábban más kaukázusi populációkon elvégzett vizsgálatok eredményét az rs2067819 és rs3892175 SNP-k esetében, amelyeknél a ritka allélok jelentősen magasabb gyakoriságot mutattak a CD csoportban a kontrollhoz képest. Ennek ellenére eredményeink tovább

erősítik a PPAR γ szerepét a bél gyulladásos folyamataiban, és alapot képeznek további mechanisztikus és klinikai hatástanulmány vizsgálatokhoz.

7 KÖZLEMÉNYEK

7.1 Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Poliska S, Csanky E, Szanto A, Szatmari I, Mesko B, Szeles L, Dezso B, Scholtz B, Podani J, Kilty I, Takacs L, Nagy L. (2011) Chronic Obstructive Pulmonary Disease-Specific Gene Expression Signatures of Alveolar Macrophages as well as Peripheral Blood Monocytes Overlap and Correlate with Lung Function. **Respiration**. 81:499-510 (2011) IF: 1.935

Penyige A, **Poliska S**, Csanky E, Scholtz B, Dezso B, Schmelczer I, Kilty I, Takacs L, Nagy L. (2010) Analyses of association between PPAR gamma and EPHX1 polymorphisms and susceptibility to COPD in a Hungarian cohort, a case-control study. **BMC Medical Genetics**. 11:152, (2010) IF: 2.84

Poliska S, Penyige A, Lakatos PL and the Hungarian IBD Study Group, Papp M, Palatka K, Lakatos L, Molnar T, Nagy L. Association of peroxisome proliferator-activated receptor gamma polymorphisms to inflammatory bowel diseases in a Hungarian cohort. **Inflammatory Bowel Diseases**. 2011;000:000–000 (DOI 10.1002/ibd.21798 Received for publication May 17, 2011; Accepted May 17, 2011.)

7.2 Egyéb közlemények

Mesko B, **Poliska S**, Nagy L. (2011) Gene expression profiles in peripheral blood for the diagnosis of autoimmune diseases. **Trends Molecular Medicine**. 17 (4), 223-233, (2011) IF: 11.049

Horvath, E., Sikovanyecz, J., Pál, A., Kaiser, L., Bálint, B.L., **Póliska, S.**, Kozinszky, Z., Szabó, J., Cystic Dilation of the Aqueductus Sylvii in Case of Trisomy 17p11.2-pter with the Deletion of the Terminal Portion of the Chromosome 6. **Case Reports in Medicine**. 2010, 1-5, 2010.

Mesko B, **Poliska S**, Szegedi A, Szekanecz Z, Palatka K, Papp M, Nagy L. (2010) Peripheral blood gene expression patterns discriminate among chronic inflammatory diseases and healthy controls and identify novel targets. BMC Medical Genomics. 3 (1) 15, (2010) IF: 2.661

Simandi Z, Balint BL, **Poliska S**, Ruhl R, Nagy L. (2010) Activation of retinoic acid receptor signaling coordinates lineage commitment of spontaneously differentiating mouse embryonic stem cells in embryoid bodies. FEBS Letters. 584(14): 3123-30. (2010) IF: 3.541

Szanto A, Balint BL, Nagy ZS, Barta E, Dezso B, Pap A, Szeles L, **Poliska S**, Oros M, Evans RM, Barak Y, Schwabe J, Nagy L. (2010) STAT6 transcription factor is a facilitator of the nuclear receptor PPAR γ -regulated gene expression in macrophages and dendritic cells. Immunity. 33(5): 699-712. (2010) IF: 20.589

Széles L, **Póliska S**, Nagy G, Szatmari I, Szanto A, Pap A, Lindstedt M, Santegoets SJ, Rühl R, Dezső B, Nagy L. (2010) Research resource: transcriptome profiling of genes regulated by RXR and its permissive and nonpermissive partners in differentiating monocyte-derived dendritic cells. Molecular Endocrinology. (11): 2218-31 (2010) IF: 5.257

Töröcsik D, Baráth M, Benko S, Széles L, Dezso B, **Póliska S**, Hegyi Z, Homolya L, Szatmári I, Lányi A, Nagy L. (2010) Activation of liver X receptor sensitizes human dendritic cells to inflammatory stimuli. Journal of Immunology. 184(10): 5456-65. (2010) IF: 5.646

Széles L, Keresztes G, Töröcsik D, Balajthy Z, Krenács L, **Póliska S**, Steinmeyer A, Zuegel U, Pruenster M, Rot A, Nagy L. (2009) 1,25-dihydroxyvitamin D₃ is an autonomous regulator of the transcriptional changes leading to a tolerogenic dendritic cell phenotype. Journal of Immunology. 182(4): 2074-83. (2009) IF: 5.646

7.3 Nemzetközi konferencián bemutatott poszterek

Poliska S, Penyige A, Palatka K, Papp M, Nagy L.: Analysis of single nucleotide polymorphisms of PPAR γ in chronic inflammatory diseases. EMBO Conference on Nuclear Receptors. Dubrovnik, Croatia. 2009.

Poliska S, Scholtz B, Csanky E, Szatmari I, Szanto A, Nagy L.: Global Gene Expression Analysis of a Complex Human Disease. Functional Genomics & Disease, Innsbruck, Austria, 2008.

Póliska S, Szatmári I, Szántó A, Csánky E, Scholtz B, and Nagy L.: Global Gene Expression Analysis of a Complex Human Disease. EMBO Workshop on Chromatin structure, organization and dynamics, Prague, Czech Repaublic, 2006.

7.4 Előadások

Póliska Szilárd, Csánky Eszter, Scholtz Beáta, Nagy László.: A COPD globális génexpressziós analízise. Magyar Tudógyógyász Társaság 54. Konferenciája, Szeged, 2006.

Iktatószám: DEENKÉTK /138/2011.

Tételszám:

Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Póliska Szilárd

Neptun kód: IJFYJP

Doktori Iskola: Molekuláris Sejt- és Immunbiológiai Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Póliska, S.**, Csánky, E., Szántó, A., Szatmári, I., Meskó, B., Széles, L., Dezső, B., Scholtz, B., Podani, J., Kilty, I., Takács, L., Nagy, L.: Chronic Obstructive Pulmonary Disease-Specific Gene Expression Signatures of Alveolar Macrophages as well as Peripheral Blood Monocytes Overlap and Correlate with Lung Function. *Respiration. Epub ahead of print (2011), 12p, 12p.*
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000324297>
IF:1.935 (2009)
2. Penyige, A., **Póliska, S.**, Csánky, E., Scholtz, B., Dezső, B., Schmelcz, I., Kilty, I., Takács, L., Nagy, L.: Analyses of association between PPAR gamma and EPHX1 polymorphisms and susceptibility to COPD in a Hungarian cohort, a case-control study. *BMC Med. Genet. 11, 152, 2010.*
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2350-11-152>
IF:2.84 (2009)



További Közlemények

3. Meskó, B., **Póliska, S.**, Nagy, L.: Gene expression profiles in peripheral blood for the diagnosis of autoimmune diseases.
Trends Mol. Med. 17 (4), 223-233, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2010.12.004>
IF:11.049 (2009)
4. Horváth, E., Sikovanyecz, J., Pál, A., Kaiser, L., Bálint, B.L., **Póliska, S.**, Kozinszky, Z., Szabó, J.: Cystic Dilation of the Aqueductus Sylvii in Case of Trisomy 17p11.2-pter with the Deletion of the Terminal Portion of the Chromosome 6.
Case Reports in Medicine. 2010, 1-5, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2010/354170>
5. Meskó, B., **Póliska, S.**, Szegedi, A., Szekanecz, Z., Palatka, K., Papp, M., Nagy, L.: Peripheral blood gene expression patterns discriminate among chronic inflammatory diseases and healthy controls and identify novel targets.
BMC Med. Genomics. 3 (1), 15, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1755-8794-3-15>
IF:2.661 (2009)
6. Simándi, Z., Bálint, B.L., **Póliska, S.**, Rühl, R., Nagy, L.: Activation of retinoic acid receptor signaling coordinates lineage commitment of spontaneously differentiating mouse embryonic stem cells in embryoid bodies.
FEBS Lett. 584 (14), 3123-3130, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2010.05.052>
IF:3.541 (2009)
7. Szántó, A., Bálint, B.L., Nagy, Z., Barta, E., Dezső, B., Pap, A., Széles, L., **Póliska, S.**, Oros, M., Evans, R.M., Barak, Y., Schwabe, J., Nagy, L.: STAT6 Transcription Factor Is a Facilitator of the Nuclear Receptor PPAR γ -Regulated Gene Expression in Macrophages and Dendritic Cells.
Immunity. 3 (5), 699-712, 2010.

Mol. Endocrinol. 24 (11), 2218-2231, 2010.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/me.2010-0215>

IF:5.257 (2009)

9. Törőcsik, D., Baráth, M., Benkő, S., Széles, L., Balázs, D., **Pólska, S.**, Hegyi, Z., Homolya, L., Szatmári, I., Lányi, Á., Nagy, L.: Activation of liver X receptor sensitizes human dendritic cells to inflammatory stimuli.

J. Immunol. 184 (10), 5456-5464, 2010.

DOI: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0902399>

IF:5.646 (2009)

10. Széles, L., Keresztes, G., Törőcsik, D., Balajthy, Z., Krenács, L., **Pólska, S.**, Steinmeyer, A., Zuegel, U., Pruenster, M., Rot, A., Nagy, L.: 1,25 dihidroxivitamin D3 Is an autonomous regulator of the transcriptional changes leading to a tolerogenic dendritic cell phenotype.

J. Immunol. 182 (4), 2047-2083, 2009.

DOI: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0803345>

IF:5.646

A DEENK Kenézy Élettudományi Könyvtár a Jelölt által a Publikációs Adatbázisba feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2011.05.11

