

**Primer immundeficientiák:
A betegágytól a génszekvenálásig**

Dr. Erdős Melinda

**DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
INFEKTOLÓGIAI ÉS GYERMEKIMMUNOLÓGIAI TANSZÉK
DEBRECEN, 2006**

**Primer immundeficientiák:
A betegágytól a génszekvenálásig**

Dr. Erdős Melinda

DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
INFEKTOLÓGIAI ÉS GYERMEKIMMUNOLÓGIAI TANSZÉK

Témavezető:

Dr. Maródi László

Tanszékvezető egyetemi tanár

Debrecen, 2006

1. BEVEZETÉS

Immundefektusnak vagy más néven immundeficientiának, immunhiányos állapotnak az immunrendszer csökkent, extrém esetben hiányzó működését nevezzük. A defektusok lehetnek primerek, amikor az immunitáshiány az immunrendszer öröklött rendellenességének következménye, amely különböző fertőzések, allergia, autoimmun és daganatos betegségek kialakulására hajlamosítja az egyént. Az elmúlt 15 évben a molekuláris genetikai diagnosztika fejlődésének köszönhetően több mint 110 primer immunhiány betegség genetikai hátterét sikerült tisztázni. Az esetek döntő többségében a molekuláris genetikai vizsgálatok segítségével pontos diagnózis állítható fel és új terápiás módszerként egyre nagyobb teret hódít a génterápia is. A PID-ben szenvedő betegek esetén a gén szintű diagnosztika a következők miatt nem nélkülözhető:

- 1) A molekuláris genetikai vizsgálatok megerősíthetik a feltételezett diagnózist.
- 2) A genetikai vizsgálatok segítségével fény derülhet az immunreguláció addig még ismeretlen részleteire, tisztázható az immunhiányos betegség patomechanizmusa.
- 3) A prénatalis genetikai vizsgálatok óriási jelentőségét a családtervezésben, a PID által érintett családokban nem kell hangsúlyozni.

Az immunhiányos állapotok korai felismerésében – bár alacsony incidenciájú megbetegedésekről van szó – a genetikai szűrővizsgálatoknak óriási jelentősége van. A korai, biztos diagnózis lehetővé teszi a fertőzések kialakulásának megelőzését és korai adekvát immunterápiáját, a genetikai tanácsadást, a hordozóállapot kiszűrését, a prénatalis diagnózist.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Az Infektológiai- és Gyermekimmunológiai Tanszék primer immundeficientia munkacsoportjában 2000 óta dolgozom. A Tanszék országos vezető központ a veleszületett immunhiány betegségek diagnosztizálásában, az érintett gyermekek kezelésében és gondozásában. PhD kutatási területem a veleszületett immunhiány betegségek patomechanizmusa és molekuláris genetikája, különös tekintettel a mutáció analízis vizsgálatokra és a mutáns fehérje funkcionális változásának meghatározására. Az értekezésben X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegségben (XLP), X-kromoszómához kötött hyper-immunglobulin M szindrómában (X-HIGM) és Shwachman-Diamond szindrómában (SDS) szenvedő betegekben végzett molekuláris genetikai vizsgálataink eredményéről számolok be. A postnatalis genetikai vizsgálatok mellett, külön is hangsúlyozom a prenatalis genetikai vizsgálatok jelentőségét a veleszületett immunhiányos betegségek diagnosztikájában.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

A molekuláris genetikai vizsgálatokat beleegyező nyilatkozat aláírása után XLP, X-HIGM és SDS miatt érintett családokban végeztük el.

3.1 Genomikus DNS izolálás

A genomiális DNS (gDNS) szeparálása etiléndinitrilotetraecetsavval (EDTA) alvadásgátolt perifériás vérből és magzati chorionboholy mintából QIAamp DNA Blood Mini kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Németország) felhasználásával történt. A nyirokcsomó szövettani mintából történő gDNS szeparálást és a terhes édesanyák esetében a magzati

gDNS izolálását, transabdominalis chorion boholy mintavételt követően a fenti DNS kivonó kittel végeztük el.

3.2 Génszekvenálás

Az *SH2D1A* gén 1-4 exonjának, a *CD40L* gén 1-5 exonjának és az *SBDS* gén 1-5 exonjának amplifikálása polimeráz láncreakcióval (PCR, Polymerase chain reaction) az 1. táblázatban feltüntetett PCR kondíciók és primer szekvenciák mellett történt. A PCR reakcióelegy minden egyes exon esetén a következőket tartalmazta: 12.5 µL JumpStart REDTaq ReadyMix PCR Reaction Mix (SIGMA-ALDRICH GmbH, Budapest), 6.5 µL desztillált víz, 0.5 µL 50 pmol/µL primer F, 0.5 µL 50 pmol/µL primer R és 5 µL gDNA. A PCR termékek tisztítása MICROCON YM-100 (Millipore Co., Bedford, USA) tisztító oszloppal történt. A PCR-termékek szekvenciáját BigDye Terminator Cycle sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) felhasználásával határoztuk meg. A szekvenálási PCR reakció elegy 20 µL össztérfogatban a következőket tartalmazta: 4 µL 5X szekvenálási puffer, 4 µL BigDye Terminator v3.1, 3 µL desztillált víz, 1 µL 3.3 pmol/µL primer és 8 µL PCR termék. A szekvenálási PCR termékek tisztítása SigmaSpin Post-Reaction Clean-Up Columns (SIGMA-ALDRICH GmbH, Budapest) tisztító oszlopokon történt. A mutáció analízis vizsgálatot ABI PRISM 310 illetve 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems, Foster City, CA) automata szekvenáló készülékkel végeztük. A szekvenciát a korábban közölt vad típusú *SH2D1A*, *CD40L* illetve *SDS* szekvenciákkal hasonlítottuk össze. A DNS mutációk számozása a cDNS (complementary DNS) szekvenciának megfelelően történt. A cDNA számozásánál azt az általánosan elfogadott szabályt alkalmaztuk, amely + 1-nek a kezdő ATG kodon "A" nukleotidját jelöli.

3.3 Sejtvonalak és antitestek

A COS-7 sejtek tenyésztése Dulbecco's modified Eagle's médiumban (Life Technologies, Grand Island, NY) 10% fetalis borjú szérum (FCS, fetal calf serum) hozzáadásával történt. A Jurkat T sejteket az American Type Culture Collection bocsátotta rendelkezésünkre. Az anti-humán SLAM monoclonalis antitestet, a nyúl anti-SHP-2 polyclonalis antitestet, a peroxidázzal konjugált kecske anti-egér antitestet és az anti-nyúl IgG polyclonalis antitestet a Santa Cruz Biotechnology-től vásároltuk meg. Az anti-egér 2B4 monoclonalis antitestet a Pharmingen, az anti-FLAG monoclonalis M5 antitestet az Eastman Kodak Corporation, az EQKLISEEDL peptidet felismerő anti-myc antitestet az Invitrogen Corporation (Carlsbad, CA) cégtől rendeltük meg.

3.4 Plazmidok és transzfekció

A mutáns *SH2D1A* (p.G16D) és *SBDS* (p.N121T és p.R175W) cDNS-ek amplifikálása PCR-rel, a pontmutációt is magába foglaló oligonukleotid primerek felhasználásával történt. A vad típusú (vt) SAP és SBDS, valamint a mutáns p.G16D és p.N121T illetve p.R175W fehérjéket pCMV-FLAG (Eastern Kodak Co.) vektor segítségével klónoztuk, hogy fluoreszcensen jelölt (FLAG)-SAP és (FLAG)-SBDS komplexet hozzunk létre. A pJFE14-SR vektor által hordozott humán SLAM cDNS a DNAX Research Institute cég ajándéka volt. A humán 2B4 cDNS-t pcDNA3.1 vektorban, a humán FynT-t myc-FynT fúziós proteinként expresszáltuk. A COS-7 sejteket (1×10^6) FuGene 6 által bevitt, megfelelő cDNS-t tartalmazó expressziós vektorral transzfektáltuk (Stratagene). A sejteket 72 órával a transzfekciót követően vizsgálatuk.

3.5 Immunprecipitáció és Western blot

A sejtek lízisét 0.5%-os 3-[(3-cholamidopropil) dimetilammónio]-1-propánszulfát

(CHAPS) oldattal végeztük, az immunoprecipitációhoz 2 órán át 4 °C-on különböző antitesteket és 30 µl protein A-agaróz gyöngyöt (Invitrogen) használtunk. A fehérjéket sodium dodecil szulfát-polyacrilamid gél elektroforézissel (SDS-PAGE) szeparáltuk és polyvinyl difluorid (PVD) membránra (Immobilon, Millipore Co.) vittük át. A filtert 1 órán át blokkoltuk, majd a megfelelő primer antitesttel kezeltük. A lekötődött antitestek kimutatására, szekunder antitestként peroxidázal-konjugált antitestet alkalmaztunk (Supersignal, Pierce).

3.6 Pulse-chase assay

A transzfektált COS-7 sejteket 1 órás metionin és cisztein megvonást követően, Tran³⁵S-jelölt (ICN Radiochemicals, Cleveland, OH) [³⁵S]metioninnal és [³⁵S]ciszteinnel három órán át kezeltünk. Az újonnan szintetizált proteinek eltávolítása cycloheximidet (végső koncentráció, 25 µg/ml) tartalmazó médiumban történt. A sejt alikvotok (5 x 10⁶ cells) lízisét követően, a radiojelölt vt és mutáns SAP és SBDS proteineket immunprecipitációval M5 FLAG-antitest segítségével analizáltuk. A fehérjék szeparálása 15%-os SDS-PAGE segítségével történt (BioRad, Hercules, CA). Az autoradiográfiát megelőzően a gélét Immobilon membránra vittük át vagy PVD nylon membránra blottoltuk.

3.7 PCR-restrikciós fragment hossz polimorfizmus (PCR-RFLP)

A c.362A>C mutáció esetén a 3-as exon primerpárjaival felamplifikált 899 bp hosszúságú PCR termékeket MaeIII restrikciós enzimmel két órán át, 55 °C-on inkubáltuk. A vizsgálatot a betegben, a beteg családtagjaiban és 50 egészséges egyénben is elvégeztük. A hasítási termékeket 2%-os agaróz gélelektroforézissel mutattuk ki. Az enzimmel történő emésztést követően a mutációt nem hordozókban két hasítási termék: egy 836 és egy 63 bp

hosszúságú keletkezik, míg a mutációt hordozókban négy hasítási terméket látunk (836, 653, 183 és 63 kb) a gélelektroforézis képen.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Új, betegséget okozó mutáció X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegségben

Az *SH2D1A* génben egy új, korábban még nem leírt missense mutációt igazoltuk, amely a SAP proteinben egy p.G16D aminosav cserét eredményezett. A mutáció kóroki szerepének igazolására a mutáns SAP féléletidejének és természetes receptorához, a SLAM-hez illetve a szintén a SLAM családba tartozó 2B4-hez való kötődését vizsgáltuk. A p.G16D protein féléletidejében eltérést nem észleltünk, azonban a fiziológiás receptorhoz való kötődés, a vt SAP-hoz képest csökkent.

4.1.1 Mutáció az *SH2D1A* génben

Egy család két fiúgyermekében FIM-et diagnosztizáltunk. A súlyos klinikai kép és a szövettani vizsgálatok eredménye alapján *SH2D1A* gén mutációjának lehetősége merült fel. A betegek családtagjainak perifériás véréből gDNS-t izoláltunk és az *SH2D1A* génmutáció analízis vizsgálatát végeztük el. Először a B2 beteg édesanyját és anyai nagymamáját vizsgáltuk, akik az 1. exon, c.47G>A mutációjára nézve heterozigótának bizonyultak. Ugyanezt a mutációt a B2 beteg nyirokcsomó szövettani blokkjából izolált gDNS-ben is igazoltuk. Bár a B1 beteg mutáció analízis vizsgálatára nem volt lehetőségünk, a klinikai kép, az X-kromoszómához kötött öröklődés és a szövettani eltérések alapján feltételeztük, hogy ő is az unokaöccsében igazolt mutációt hordozta. A család kivizsgálása közben a B2 beteg nagynénje várandós lett és a magzati nem

meghatározás fiú magzatot igazolt. Az édesanya és a fetus a mutációra nézve vad típusúnak bizonyult.

A SAP protein p.G16D aminosav cseréhez vezető c.47G>A mutációja XLP betegek között korábban még nem volt ismert, ezért a mutáns fehérje patogenetikai szerepének igazolására további vizsgálatokat végeztünk.

4.1.2 A mutáns p.G16D protein féléletidejének meghatározása

Korábbi megfigyelések az XLP patogenezisében két fontos tényező lehetséges kóroki szerepét hangsúlyozzák. Az egyik az SH2D1A protein jelentősen csökkent féléletideje miatt lecsökkenő intracelluláris fehérje koncentráció, a másik az SH2D1A kötődésének károsodása SLAM családba tartozó receptorokhoz. Feltételezésünk szerint a p.G16D mutáció a SAP stabilitásának csökkenéséhez és a T lymphocytákban és az NK-sejtekben csökkent SAP koncentrációhoz vezet, amely az XLP-re jellegzetes klinikai tünetek kialakulását eredményezi. Hipotézisünk igazolására pulse-chase assay segítségével a COS-7 sejtekben expresszált mutáns SAP féléletidejét vizsgáltuk, 24 órás periódus alatt [³⁵S]metionin- és [³⁵S]cisztein-jelölt SAP segítségével. A p.G16D féléletideje a COS-7 illetve a Jurkat sejtekben kifejezett vt SAP fehérje féléletidejének megfelelő volt. Ezek az adatok egyértelműen arra utalnak, hogy a súlyos klinikai kép nem a mutáns SH2D1A csökkent féléletidejével magyarázható.

4.1.3 A mutáns p.G16D protein fiziológias receptorokhoz való kötődésének vizsgálata

Feltételezésünk szerint a SAP fehérje aminosav szekvenciájában bekövetkező glicin aszpartát csere, a SAP fehérje receptorhoz való kötődését befolyásolja. Ezért a vt és a mutáns SAP, SLAM és 2B4 receptorokhoz való kötődését vizsgáltuk. A COS-7 sejtekbe transzfekcióval bejuttatott Fyn tirozin-kináz foszforilálja az ugyancsak transzfekcióval

bejuttatott SLAM illetve 2B4 fehérjét. A COS-7 sejteket SLAM vagy 2B4 receptorokat kódoló plazmidokkal transzfektáltuk, a receptorok kifejeződése 72 órával a transzekció után következett be. Amennyiben ugyanezen COS-7 sejtekbe SH2D1A/SAP fehérjét is transzfektálunk a Fyn általi SLAM/2B4 foszforiláció jelentősen megnő. Az SH2D1A/SAP fehérje jelenléte ugyanis megakadályozza egy protein tirozin-foszfataznak, az SHP-2-foszfataznak a SLAM-receptorhoz való kötődését. Eredményeink azt mutatják, hogy a SAP fehérje SLAM és a 2B4 receptorokhoz való kötődése a mutáns p.G16D protein esetén nem következik be.

4.2 Invazív *Cryptococcus laurentii* fertőzés X-kromoszómához kötött hyper-immunglobulin M szindrómában szenvedő kilenc éves fiúgyermekben

Egy X-HIGM szindrómában szenvedő betegben invazív *C. laurentii* fertőzés kialakulásáról számoltunk be. Az áramlási citometriás vizsgálatok a PMA és ionomycin aktivált T-sejtek felszínén a CD40L expresszió hiányát mutatták.

4.2.1 Mutáció a *CD40L* génben

A mutáció analízis vizsgálatok a beteg esetében a *CD40L* gén, 2-es exonján, a 216. nukleotid pozícióban hemizigóta formában C>A transzverziót igazoltak (c.216C>A). Az édesanya ugyanerre a mutációra nézve heterozigótának bizonyult. Fehérje szinten a mutáció a 72. aminosav pozícióban stop codon képződéséhez vezet (p.C72X). A beteg idősebb fiútestvérében genetikai vizsgálat végzésére ugyan nem volt lehetőségünk, de az X-HIGM szindrómának megfelelő súlyos klinikai kép és az X-kromoszómához kötött öröklődésment alapján feltételeztük, hogy a testvérehez hasonlóan édesanyjától ő is a hibás allélt örökölte.

4.2.2 A *Cryptococcus laurentii* identifikálása

A gomba tenyésztése élesztő kivonatot tartalmazó Sabouraud agar táptalajon, 26 °C-on történt. A gomba növekedése 36 °C-on nem biztosítható. A nyákos, krémszínű telepekben ellipszis vagy gömb alakú, 2.5-7.0 x 2.0-5.5 µm átmérőjű élesztősejtek voltak láthatók. "Bird seed" agar táptalajon végezve a tenyésztést fekete színű telepeket láttunk. A *Cryptococcus* ellenes antitest titer az akut és a rekonvaleszcens szérumban 1/1000 és 1/400 volt. A *Cryptococcus*ra specifikus latex agglutinációs teszt (Ramco) pozitív volt. Az Auxacolor (BioRad) rendszerrel végzett identifikálás *C. laurentii* jelenlétét igazolta a vizsgált mintában. Az identifikálást a hagyományos módszerekkel is megismételve, a laktóz és a melibióz bontás, valamint a csökkent hőtürés alapján *C. neoformans* kizárható volt.

4.3 Új, betegséget okozó missense mutációk Shwachman-Diamond szindrómában

Jelen munkában Magyarországon elsőként számoltunk be genetikai vizsgálattal is igazoltan súlyos SDS-ben szenvedő betegről, akiben mutáció analízis vizsgálattal az *SBDS* génen két új, korábban még nem ismert missense mutációt találtunk a 3-as és a 4-es exonban. A missense mutációk következtében az *SBDS* által kódolt fehérjében p.N121T és p.R175W aminosav cserék jönnek létre, amelyek a fehérje féléletidejét csökkentik. A RFLP vizsgálatot a beteg családtagjaiban és 50 egészséges egyénben elvégezve egyértelműen igazoltuk a c.362A>C mutáció patogenetikai szerepét. Mindezek alapján feltételeztük, hogy súlyos SDS fenotípust nemcsak az *SBDS* és pseudogénje közötti konverziós mutációk, hanem összetett heterozigóta missense mutációk is okozhatnak.

4.3.1 Mutációk az *SBDS* génben

Mutáció analízis vizsgálattal a beteg gyermekben az autoszomális recesszív öröklődésmentnek megfelelően, összetett heterozigóta állapotot igazoltunk. Az *SBDS* gén 3-as exonján a 362. nukleotid pozícióban egy adenin→citozin csere (c.362A>C), a 4-es exonon az 523. nukleotid pozícióban egy citozin→timin csere (c.523C>T) eredményezte a hibás kodon kialakulását. A missense mutációk következtében az *SBDS* által kódolt fehérjében a 121. aminosav aszparaginsav helyett treoninre (p.N121T) illetve a 175. aminosav argininről triptofánra (p.R175W) változik. Stop kodon tehát nem keletkezik, így a *SBDS* szintézise nem áll le, de hibás funkciójú fehérje szintetizálódik. A család genetikai vizsgálata az anya, az apa és az egészséges fiútestvér esetében hordozó állapotot igazolt. Az édesanya időközben ismét várandós lett és kérte születendő gyermeke prenatális genetikai vizsgálatát. A magzat hordozónak bizonyult, a magzati DNS-en mutáció csak a 4-es exonon volt kimutatható. Az édesanya a terhességet zavartalanul kiviselte és egészséges leánygyermeknek adott életet.

4.3.2 Az *SBDS* gén 3. exonjának vizsgálata PCR-restrikciós fragment hossz polimorfizmussal

Tekintettel arra, hogy a fent leírt két mutáció korábban még nem volt ismert, igazolni kellett azok patogenetikai szerepét, kizárva az esetleges polimorfizmus lehetőségét. A 3-as exonon található (c.362A>C) mutáció esetében MaeIII restrikciós enzimmel PCR-RFLP vizsgálatot végeztünk. A nukleotid sorrendben a 362. pozícióban bekövetkező adenin→citidin csere a MaeIII restrikciós enzim számára új (második) hasítási helyet hoz létre. Az enzimmel történő emésztést követően így a mutációt nem hordozókban két hasítási termék: egy 836 és egy 63 bázispár (bp) hosszúságú keletkezik, míg a mutációt hordozókban négy hasítási terméket látunk (836, 653, 183 és 63 bp) a gélelektroforézis képen. Az RFLP vizsgálatot 50 egészséges egyénben (100 allél) elvégezve, egyértelműen

igazolható volt, hogy a fent leírt mutáció patogén és nem tekinthető polimorfizmusnak. A PCR-RFLP vizsgálatot a 4-es exonon lévő mutáció esetében a megfelelő restrikciós enzim hiányában nem tudtuk elvégezni, ezért 50 egészséges egyénben (100 allél) gDNS szekvenálást végeztünk, amely egyetlen esetben sem igazolt mutációt a 4-es exonban. A beteg összetett heterozigóta állapota és a hordozók tünetmentessége is a mutációk kóroki szerepe mellett szólt.

4.3.3 A mutáns proteinek féléletidejének meghatározása

A p.N121T és p.R175W mutációt hordozó FLAG-gal jelölt SBDS proteinek féléletidejét immunoprecipitációt és SDS-PAG elektroforézist követően vizsgáltuk. Eredményeink azt mutatták, hogy a mutációk csökkentik az SBDS proteinek féléletidejét.

4.3.4 Az SBDS és rokon génszekvenciák összehasonlító analízise

A p.N121T és p.R175W aminosav változások a halaktól kezdődően az emberig (*Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Gallus gallus*, *Danio rerio*) az SBDS fehérje rendkívül konzervált aminosavait érintik. Ez a megfigyelés is megerősíti a mutációk kóroki szerepét.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1 X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegség

Az X-kromoszómához kötött öröklődő, az EBV fertőzéssel szembeni rendkívüli fogékonyságban megnyilvánuló immunhiány betegség oka az SH2 domént hordozó SH2D1A vagy más néven SAP fehérjét kódoló *SH2D1A* gén mutációja. Jelen munkában két fiúgyermekről számoltunk be, akikben az XLP-re típusos súlyos, fenotípus és szövettani eltérések voltak észlelhetők. A család mutáció analízis vizsgálata az *SH2D1A*

gén 1-es exonjában c.47G>A missense mutációt igazolt. Fehérje szinten a mutáció egy p.G16D aminosav cserét eredményezett. Irodalmi adatok szerint a missense mutációk az *SH2D1A* gén bármelyik szakaszát érinthetik. Ezek a mutációk az SH2D1A protein jelentősen csökkent féléletideje miatt, a fehérje instabilitásához vezethetnek, vagy az SH2D1A fiziológiás receptorához, elsősorban a SLAM receptorcsaládba tartozó receptorokhoz való kötődésének károsodását eredményezik. A mutáció fehérje szintű funkcionális következményeinek vizsgálatára a wt és a mutáns cDNS-eket COS 7 sejtekben expresszáltuk. A mutáns (p.G16D) SH2D1A protein relatíve stabilnak bizonyult. A p.G16D protein féléletideje a vad típuséval megegyező volt, a mutáns fehérje kötődése azonban a fiziológiás receptorokhoz (SLAM és 2B4) károsodott. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a receptorhoz való kötődés károsodása hozzájárul a SAP fehérje funkciójának elvesztéséhez a p.G16D mutációt hordozó betegekben. A SAP/SLAM aktivációs útvonal károsodása felelős lehet az interferon- γ termelés szabályozásának zavaráért, míg az SAP/2B4 interakció károsodása a cytotoxikus T- és NK-sejtek működészavarát eredményezheti. Ez a kombinált defektus felelős a súlyos klinikai tünetek kialakulásáért és az EBV indukálta immunválasz, illetve sejtproliferáció szabályozásának összeomlásáért. Mindazonáltal további vizsgálatok szükségesek a genotípus-fenotípus összefüggések pontos tisztázására, hiszen mind a mai napig nem ismert az *SH2D1A* génmutációk típusa és az EBV fertőzések súlyossága, illetve a prognózis közötti kapcsolat. Eddigi megfigyelések alapján a missense mutációk a betegség enyhébb lefolyású, kevésbé súlyos kimenetelű formáját eredményezik. Saját adataink ezt a megfigyelést nem erősítik meg.

A mutáns p.G16D protein konformációs vizsgálata igazolta, hogy az aminosav változás hatására a SAP fehérje tirozin-kötő régiója megváltozik, amely befolyásolja a SLAM és a 2B4 receptorokhoz való kötődést. A klasszikus SH2 domének a foszfopeptid

molekulákat “kettős-fogú” formában kötik. A foszfortirozin molekulák egyrészt a SAP centrális részével és a C terminális rész 3-5 aminosavával kapcsolódva (“első fog”) kötődhetnek a receptor zsebbe. A SAP fehérjének van egy másik tirozin-kötő régiója is, egy N-terminális Tyr aminosav. Ez az N-terminális “második fog” az Arg13, a Glu17, az Ile51 és a Thr53 aminosavak által formált kötőhelybe illeszkedik. Bár a 16-os Gly nem vesz részt direkt a peptid kötésben, a 17-es Glu-hoz való közelsége magyarázhatja a SLAM és a 2B4 receptorokhoz való kötődés zavarát. Lehetséges, hogy a SAP 16-os pozíciójában lévő glicin biztosítja a receptor kötéshez szükséges fehérjestruktúrát. Bármi is legyen a pontos mechanizmus, megfigyeléseink egyértelműen aláhúzzák a 16-os glicin jelentőségét az EBV indukált T-sejtek működésében és a SAP-SAP receptor interakcióban.

Összefoglalva egy XLP miatt érintett család két FIM következtében exitált fiúgyermekében egy új, korábban még nem leírt missense mutációt igazoltunk az *SH2D1A* génen. A p.G16D mutáció a SAP protein féléletidejében szignifikáns csökkenést nem eredményezett, de megakadályozta a SAP kötődését a SLAM receptorcsalád legalább két receptorához (SLAM és 2B4). Megfigyeléseink a p.G16D kóroki szerepére utalnak XLP-ben.

5.2 X-kromoszómához kötött hyper-immunglobulin M szindróma

Egy kilenc éves X-HIGM miatt gondozott fiúgyermek esetét ismertettük, akiben a mikrobiológiai, a szerológiai és a biokémiai vizsgálómódszerek segítségével invazív *C. laurentii* fertőzést diagnosztizáltunk. A gyermekben fluconazol terápia hatására teljes regresszió következett be. A gyermek alapbetegségét az áramlási citometriás vizsgálatok mellett, gDNA szekvenálással is alátámasztottuk, amely a *CD40L* gén, 2-es exonján, a 216. nukleotid pozícióban hemizigóta formában C>A transzverziót (c.216C>A) igazolt. A *CD40L* gén az X-kromoszóma q26-os régiójára lokalizálható, 5 exonból épül fel. A *CD40L*

génben eddig leírt különböző típusú (missense, nonsense, deléció, inszerció, splice-site) mutációk a gén egészét érinthetik, de leggyakrabban a TNF-homológ doménben mutatkoznak. A humán CD40L egy 261 aminosavból felépülő II. típusú transzmembrán fehérje, amely egy rövid intracellularis farki részből, egy transzmembrán régióból és egy TNF-el homológiát mutató extracellularis doménből épül fel. Az irodalmi adatok szerint nonsense, tehát stop kodon képződéséhez vezető mutációt eddig 18 családban írtak le a *CD40L* génben, amely 12 különböző kodont érintett. Az esetek egy részében a fehérjeszintézis idő előtti leállása (premature termination) és a mutáns CD40L sejtfelszíni expressziója között összefüggés észlelhető. A betegünkben a 2-es exonban igazolt p.C72X mutáció az extracelluláris domént érintően, a fehérjeszintézis idő előtti leállásához és a funkcióképes CD40L protein expressziójának hiányához vezet az aktivált T-sejtek felszínén.

C. laurentii egy közelmúltban azonosított, opportunista patogén gomba, amelyet kórokozóként elsősorban csökkent immunitású betegekből izolálnak. Korábban szaprofita, nem patogén gombának tartották, de később egyre növekvő előfordulását észlelték bőrfertőzésekben, keratitisben, endophthalmitisben, tüdő tályogban, peritonitisben, meningitisben és fungaemiában. A kemoterápia, az immunszuppresszív kezelés, a parenteralis táplálás az intravénás katéterek és a széles spektrumú antibiotikumok alkalmazása egyértelműen növeli a *C. laurentii* infekciók kialakulásának lehetőségét. Irodalmi ritkaságnak számító esetünk is bizonyítja, hogy öröklött immunodeficientiák is hajlamosíthatnak invazív *C. laurentii* fertőzések kialakulására. Primer T-sejt defektusokban, mint amilyen a CD40L deficiencia is a *C. laurentii* fertőzéseknek differenciál diagnosztikai jelentősége is lehet.

Jelenleg még nem rendelkezünk a *C. laurentii* fertőzésekre vonatkozóan általánosan elfogadott kezelési protokollal. Az izolátumok többsége érzékenynek bizonyul

amphotericin B-re, fluconazol esetén pedig a minimális inhibitor koncentráció 4 és 64 µg/ml közötti. Az érzékenységi vizsgálatok eredménye alapján és a fluconazol kisebb toxicitása miatt, betegünkben fluconazol terápiát alkalmaztunk. Saját és mások tapasztalata alapján immunhiányos betegek fluconazol-érzékeny *C. laurentii* fertőzése esetén, a fluconazol az elsőként választandó antifungális szerek közé tartozik.

5.3 Shwachman-Diamond szindróma

Egy öt hónapos fiúcssecsemőben a súlyos pancytopenia, az exocrin pancreas elégtelenség és az ennek következtében kialakuló súlyos malabsorptiós szindróma, valamint a visszatérő, gennyes bőr- illetve alsó- és felső légúti fertőzések alapján SDS-t diagnosztizáltunk. Mutáció analízis vizsgálattal az *SBDS* génen két új, az irodalomban korábban még nem leírt mutációt (c.362A>C és c.523C>T) találtunk. A transzfekcióval vizsgálva a mutáns p.N121T és p.R175W SBDS proteinek féléletidejét, a vad típushoz képest csökkenés volt észlelhető. A PCR-RFLP vizsgálattal a c.362A>C mutáció, amelyet a beteg gyermek édesapjától örökölt 50 egészséges egyénben nem volt kimutatható. A c.523C>T mutáció kóroki szerepét a 4. exont kódoló gDNS szekvenálásával igazoltuk, amely 50 egészséges egyénben a mutációra nézve negatívnak bizonyult. Az összehasonlító szekvencia analízis vizsgálatok igazolták, hogy mindkét mutáció az SBDS fehérje rendkívül konzervált aminosavait érinti. Megfigyeléseink egyértelműen arra utalnak, hogy súlyos SDS fenotípus a korábban gondoltakkal ellentétben nemcsak az *SBDS* és pseudogénje, az *SBDSP* közötti konverziós mutációk következménye lehet, hanem összetett heterozigóta formában missense mutációk is eredményezhetik.

A humán genom vizsgálatok igazolták, hogy a 7. kromoszóma tartalmazza az emberi DNS legnagyobb intrakromoszómális duplikátumát [14]. A 7. kromoszóma ezen szegmentális duplikátuma, vagy más néven duplikonja jelenti a génkonverziós események

legfontosabb célpontjait [60]. A génkonverzió egy ismert mutáció mechanizmus, amelyet számos genetikai betegségben, így SDS-ben is leírtak [11, 12, 56]. Az első közlésekben az SDS fenotípus kialakulását az *SBDS* és pseudogénje, az 5.8 Mb távolságra elhelyezkedő, *SBDSP* közötti konverziós mutációk következményének tartották [8]. Az *SBDS* gén szekvencia analízis vizsgálatai azt mutatták, hogy a konverziós mutációk többségében az 183-184TA→TC, illetve a 201A→G és a 258+2T→C mutációk megtalálhatók. Hasonló adatokat közöltek kisebb betegcsoportot feldolgozó japán és olaszországi tanulmányok is [35, 45, 47]. Néhány betegben az *SBDS* génen mutáció nem volt kimutatható, jelezve, hogy az SDS genetikailag heterogén betegség [71]. A frameshift és a missense mutációk meglehetősen ritkák, és mindezülig ettől az egy esettől eltekintve összetett heterozigóta missense mutáció által okozott betegségről a világon sehol sem számoltak be.

Az előbb említettek miatt a jelen munkában közölt két mutáció molekuláris szintű következményeinek elemzése nagy kihívást jelent. A leírt missense *SBDS* mutációk valószínűleg a fehérje folding folyamatát befolyásolják és ezen keresztül a fehérje instabilitásához és csökkent fehérje féléletidőhöz vezetnek. Vizsgálataink szerint a mutáns és a wt *SBDS* proteinek féléletidejében különbség észlelhető. A missense mutációk módosíthatják a felszíni epitópokat és megváltoztathatják a felszíni elektrosztatikus potenciált. A fehérje kristályszerkezeti vizsgálatok az *SBDS* három-doménos szerkezetét igazolták, egy N-terminális résszel, egy a mutációk által leginkább érintett centrális doménnel és egy C-terminális résszel, amely szerkezeti homológiát mutat ismert RNS-kötő doménnel [59]. A C-terminális régió mutációi extrém ritkák. A p.N121T mutáció az *SBDS* fehérje 98-169 aminosavait magában foglaló centrális doménjében található [59]. A hidrofil, bázikus aminosavról hidrofób, semleges aminosavra történő cserét eredményező p.R175W mutációt az *SBDS* fehérje C-terminális része (170-250 aminosavak) tartalmazza. Az itt leírt új, mutációk valószínűleg a centrális és a C-terminális domének elektrosztatikus

töltéseit változtatják meg [62]. Ennek a változásnak a jelentőségét húzza alá az a jól ismert tény is, miszerint nukleinsav-kötő fehérjék rendszerint bázikus aminosavakon keresztül kötődnek a cukor-foszfát oldalláncokhoz [62]. Az SBDS fehérje pontos funkciójának megismeréséhez további kutatások szükségesek, amelyek elengedhetetlenül fontosak a fent leírt két, új missense mutáció következményének tisztázásához is.

7. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

- Az *SH2D1A* génen új, betegséget okozó missense mutációt (c.47G>A) írtunk le, amely a SAP proteinben p.G16D aminosav cserét eredményezett.
- A p.G16D mutációt hordozó betegekben a mutáns, p.G16D protein fiziológias receptorokhoz, - mint a SLAM és a 2B4 - való kötődésének károsodása magyarázhatja a SAP fehérje funkcióvesztését.
- Súlyos CD40L deficienciában szenvedő betegben c.216C>A (p.C172X) mutációt igazoltunk.
- Elsőként számoltunk be invazív *C. laurentii* infekció előfordulásáról X-HIGM szindrómában szenvedő betegben.
- Magyarországon elsőként, súlyos SDS szindrómában szenvedő beteg esetét ismertettük, akinél mutáció analízis vizsgálattal két, új, korábban még nem leírt, missense mutációt találtunk, az *SBDS* gén 3-as (c.362A>C, p.N121T) és a 4-es (c.523C>T, p.R175W) exonjaiban.
- Szintén elsőként igazoltuk, hogy súlyos SDS fenotípus a korábban gondoltakkal ellentétben nemcsak az *SBDS* és pseudogénje, az *SBDSP* közötti konverziós mutációk következménye lehet, hanem összetett heterozigóta formában missense mutációk is eredményezhetik.

KÖZLEMÉNYEK

Az értekezést megalapozó közlemények:

1. **Erdős M.**, Maródi L.: Hyper-IgM szindróma.
Gyermekegyógyászat 2003; 54:117-25.
2. Rákóczi É., **Erdős M.**, Bartyik K., Kemény É., Nemes Z., Maródi L. X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegség.
Gyermekegyógyászat 2004; 55:27-30.
3. **Erdős M.**, Uzvölgyi É., Nemes Z., Török O., Rákóczi É., Went-Sümegi N., Sümegi J., Maródi L. Characterization of a new disease-causing mutation of *SH2D1A* in a family with X-linked lymphoproliferative disease.
Hum. Mutat. 2005; 25:506. **IF: 7.923**
4. **Erdős M.**, Durandy A., Maródi L.: Genetically-acquired class-switch recombination defects: The multi-faced hyper-IgM syndrome.
Immunol. Lett. 2005; 97:1-6. **IF: 2.301**
5. Simon G., Simon G., **Erdős M.**, Maródi L.: Invasive *Cryptococcus laurentii* disease in a 9-year-old boy with X-linked hyper-immunoglobulin M syndrome.
Pediatr. Infect. Dis. J. 2005; 24:935-7. **IF: 3.047**
6. **Erdős M.**, Alapi K., Balogh I., Oroszlán G., Rákóczi É., Sümegi J., Maródi L.: Severe Shwachman-Diamond syndrome phenotype caused by missense mutations in the *SBDS* gene.
Exp. Hematol. 2006 (accepted for publication) **IF: 4.019**

Az értekezést megalapozó közlemények impact faktora: 17.29

Egyéb az értekezés témáján belüli angol nyelvű közlemények:

1. Alapi K., **Erdős M.**, Török O., Maródi L.: Prenatal diagnosis of the R86H WASP gene mutation in heterozygous twins.
Clin. Chem. 2006; 52:901-3. **IF: 7.717**
2. **Erdős M.**, Alapi K., Maródi L.: Retrospective diagnosis of X-linked hyper-IgM syndrome in a family with multiple deaths of affected males.
Haematologica 2006 (accepted for publication) **IF: 4.575**
3. Ku C. L., Picard C., **Erdős M.**, Jeurissen A., Bustamante J., Puel A., von Bernuth H., Filipe-Santos O., Chang H.H., Lawrence T., Raes M., Maródi L., Bossuyt X., Casanova JL.: IRAK-4 and NEMO mutations in otherwise healthy children with recurrent invasive pneumococcal disease.
J. Med. Genet. 2006 (accepted for publication) **IF: 4.33**

Egyéb az értekezés témáján kívüli angol nyelvű közlemények:

4. Tóth J., **Erdős M.**, Maródi L.: Rebound hepatosplenomegaly in type 1 Gaucher disease.
Eur. J. Haematol. 2003; 70:125-8. **IF: 1.714**
5. Moskwa P., Palicz A., Paclet M., Dagher M., **Erdős M.**, Maródi L., Ligeti E.: Glucocerebroside inhibits NADPH oxidase activation in cell-free system.
Biochi. Biophys. Acta 2004; 1688:197-203. **IF: 3.046**
6. Garzuly F., Maródi L., **Erdős M.**, Grubits J., Varga Z., Gelphi E., Rohonyi B., Mázló M., Molnár A., Budka H.: Megadolichobasilar anomaly with thrombosis in a family with Fabry's disease and a novel mutation in the α -galactosidase A gene.
Brain 2005; 128:2078-83. **IF: 7.535**

Egyéb közlemények impact faktora: 28.917

Összesített impact faktor: 46.207

Az értekezés témáján kívüli magyar nyelvű közlemények:

1. **Erdős M.**, Maródi L.: Az interferon- γ aktivációs utak primer defektusai.
Orv. Hetil. 2001; 142:2557-61.
2. **Erdős M.**, Maródi L.: Az interferon- γ aktiváció újszülöttkori sajátosságai macrophagokban.
Magyar Immunológia 2002; 1:12-8.
3. **Erdős M.**, Maródi L.: Az IVIG gyulladásgátló hatásának mechanizmusa immunthrombocytopeniás purpurában.
Magyar Immunológia 2002; 1:26-7.
4. **Erdős M.**, Tóth J., Maródi L.: Prezentációs jelek és tünetek Gaucher-kórban.
Orv. Hetil. 2002; 143:2327-35.
5. **Erdős M.**, Maródi L.: Az autoimmun lymphoproliferatív szindróma klinikuma és molekuláris genetikája.
Gyermekegyógyászati Továbbképző Szemle 2003; 8:4-9.
6. **Erdős M.**, Maródi L.: Gaucher-kór.
Granum 2003; 6:23-7.
7. Aleksza M., **Erdős M.**, Maródi L.: Az áramlási citometria szerepe a primer immunhiányos betegségek diagnosztikájában.
Gyermekegyógyászat 2003; 54:181-7.
8. Boda A., **Erdős M.**, Tóth J., Nagy J., Maródi L.: Több csont destruktív elváltozása 1. típusú Gaucher-kórban.
Orv. Hetil. 2003; 144:625-7.
9. **Erdős M.**, Nagy L., Szentkereszty Z., Sáfrány G., Maródi L.: Fasciitis necrotisans hyper-IgE szindrómában.
Orv. Hetil. 2004; 145:15-20.
10. **Erdős M.**, Maródi L.: Klinikai manifesztációk hyper-IgE szindrómában.
Gyermekegyógyászat 2004; 55:15-25.
11. **Erdős M.**, Maródi L.: Klinikai manifesztációk hyper-IgE szindrómában.
Focus Medicinae 2004; 6:3-9.
12. **Erdős M.**, Maródi L.: Intravénás immunglobulin terápia autoimmun kórképekben.
Focus Medicinae 2004; 6:11-7.

13. **Erdős M.**, Maródi L.: Fertőzések etiopatológiája veleszületett immunglobulin-defektusokban.
Családorvosi Fórum 2005; 2:34-40.
14. **Erdős M.**, Maródi L.: Szelektív antipoliszaccharidantitest-hiány szindróma és IRAK-4-deficiencia invazív *Pneumococcus*-fertőzésben.
Gyermekegyógyászat 2005; 56:115-21.
15. Alapi K., **Erdős M.**, Maródi L.: Wiskott-Aldrich szindróma génjének mutációja congenitalis thrombocytopeniás csecsemőben.
Gyermekegyógyászat 2005; 56:135-9.
16. **Erdős M.**, Maródi L.: Invazív pneumococcus fertőzések primer immundefektusokban.
Orv. Hetil. 2006; 147: 29-34.
17. **Erdős M.**, Maródi L.: Az interferon aktivációs utak primer és átmeneti defektusai.
Magyar Immunológia 2006; 5:40-1.

Megjelent absztraktok

1. Aleksza M., **Erdős M.**, Maródi L.: CD40-ligand deficiency. *Magyar Immunológia* 2002; 3:8.
2. **Erdős M.**, Durandy A., Maródi L.: Autosomal recessive hyper-IgM syndrome. *Magyar Immunológia* 2002; 3:17.
3. **Erdős M.**, Ku CL., Bossuyt X., Casanova JL., Maródi L.: Invasive pneumococcal disease in a 6 year-old child with IRAK-4 deficiency and anti-polysaccharide antibody deficiency. *Tissue Antigens* 2004; 64:402.
4. Rákóczi É., **Erdős M.**, Maródi L.: Fatalis mononucleosis infectiosa. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia* 2004; 11:S12.
5. **Erdős M.**, Ku CL., Bossuyt X., Casanova JL., Maródi L.: Invasive pneumococcal disease with IRAK-4 deficiency and anti-polysaccharide antibody deficiency. *Magyar Immunológia* 2004; 3:28.
6. **Erdős M.**, Úzvölgyi É., Nemes Z., Török O., Rákóczi É., Went-Sümegei N., Sümegei J., Maródi L.: Characterization of a new disease-causing mutation in the SAP protein observed in a family with X-linked lymphoproliferative disease. *Magyar Immunológia* 2004; 3:74.
7. Alapi K., Gulácsy V., **Erdős M.**, Török O., Ochs H., Maródi L.: Mutation analysis in Wiskott-Aldrich syndrome. *Magyar Immunológia* 2005; 2:9.

8. **Erdős M.**, Went-Sümegei N., Alapi K., Oroszlán G., Sümegei J., Maródi L.: New disease-causing mutations in Shwachman-Diamond syndrome. *Magyar Immunológia* 2005; 2:14.

Angol nyelvű előadások

1. Hyper-IgM syndrome in three siblings. XXXII. Meeting of the Hungarian Society for Immunology. Kaposvár, Hungary, 2002.
2. Necrotizing fasciitis in a patient with hyper-IgE syndrome. Primary Immunodeficiency (PID) Awareness Meeting. PID Round Tour in East-Central Europe: The J project. Targu Mures, Romania, 2004.
3. Hyper-IgE syndrome: Review. Primary Immunodeficiency (PID) Awareness Meeting. PID Round Tour in East-Central Europe: The J project. Beograd, Serbia and Montenegro, 2004.
4. Selective anti-polysaccharide antibody deficiency. Primary Immunodeficiency (PID) Awareness Meeting. PID Round Tour in East-Central Europe: The J project. Skopje, Macedonia, 2004.
5. Interleukin-1 receptor associated kinase-4 deficiency. Primary Immunodeficiency (PID) Awareness Meeting. PID Round Tour in East-Central Europe: The J project. Kiev, Ukraine, 2004.
6. Clinical and immunological characteristics of hyper-IgE syndrome. Primary Immunodeficiency (PID) Awareness Meeting. PID Round Tour in East-Central Europe: The J project. Sofia, Bulgaria, 2005.
7. A new mutation in the SBDS gene. European Society for Pediatric Haematology and Immunology (ESPHI) Biannual Meeting, Molecular Genetics in Pediatric Haematology and Immunology. Budapest, Hungary, 2005
8. Identification of a new disease-causing mutation in an infant with Shwachman-Diamond syndrome. Meeting of the Hungarian Working Group for Pediatric Immunology. Debrecen, Hungary, 2005.
9. Severe Shwachman-Diamond syndrome phenotype caused by compound heterozygous missense mutations in the SBDS gene. XIIth Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Budapest, Hungary, 2006.

Magyar nyelvű előadások

1. Interferon gamma deficienciák klinikai manifesztációi. Magyar Gyermekorvosok Társasága Északkelet-Magyarországi Területi Szervezetének Konferenciája, Eger, 2001.
2. Primer Th1 citokin defektusok klinikai manifesztációi és elkülönítő diagnosztikája. A Magyar Gyermekimmunológiai Munkacsoport Tudományos Ülése, Szeged, 2001.
3. Magyarországi Gaucher regiszter. Lysosomal Tárolási Betegségek: Molekuláris mechanizmus, diagnosztika és terápia. MTA DAB Tudományos Ülés, Debrecen 2002.
4. Hyper-IgM szindróma. A Magyar Gyermekimmunológiai Munkacsoport Tudományos Ülése, Budapest, 2002.
5. A magyarországi Gaucher-regiszter. A veleszületett anyagcsere-betegségek kezelése. Tudományos Ülés, Visegrád, 2003.
6. A magyarországi Gaucher-regiszter. Ritka betegségek. MTA DAB Tudományos Ülés, Debrecen, 2003.
7. Fasciitis necrotisans hyper-IgE szindrómában. A Magyar Gyermekorvosok Társasága Északkelet-Magyarországi Területi Szervezetének Konferenciája, Miskolc, 2003.
8. Fasciitis necrotisans hyper-IgE szindrómában. A Magyar Gyermekimmunológiai Munkacsoport Tudományos Ülése, Noszvaj, 2003.
9. Interleukin-1 receptor-asszociált kináz-4 génmutáció invazív pneumococcus fertőzésben. A Magyar Gyermekimmunológiai Munkacsoport Tudományos Ülése, Székesfehérvár, 2004.
10. A hyper-IgE szindróma klinikuma és immunopathológiája. A Magyar Allergológiai és Klinikai Immunológiai Társaság XXXIII. Kongresszusa, Debrecen, 2005.
11. Új génmutáció Shwachman-Diamond szindrómában. Tüdőgyógyászati, Allergológiai és Immunológiai Megbetegedések Közhasznú Nemzetközi Alapítvány VIII. Tudományos Kongresszusa, Debrecen, 2005.
12. Új génmutáció Shwachman-Diamond szindrómában. A Gyermek Gyógyításáért Alapítvány Kuratóriuma, a Markhot Ferenc Kórház - Rendelőintézet Igazgatósága és Tudományos Bizottsága: XII. Dr. Frank Mária Emlékülés, Eger, 2005.

13. Characterization of a new disease-causing mutation of *SH2D1A* in a family with X-linked lymphoproliferative disease. Magyar Gyermekorvosok Társasága Nagygyűlés, Balatonszárszó, 2005.
14. Új génmutáció Shwachman-Diamond szindrómában. Magyar Immunológiai Társaság XXXV. Vándorgyűlése, Sopron, 2005.

Angol nyelvű poszterek

1. **Erdős M.**, Forveille M., Durandy A., Maródi L.: Activation-induced cytidine deaminase deficiency in three siblings with hyper-IgM syndrome. International Symposium on Primary Immunodeficiency Diseases. Debrecen, Hungary, 2002.
2. Aleksza M., Savoldi G., **Erdős M.**, Notarangelo L., Maródi L.: X-linked hyper-IgM syndrome due to splice-site mutation in the CD40 ligand gene. International Symposium on Primary Immunodeficiency Diseases. Debrecen, Hungary, 2002.
3. Maródi L., Savoldi G., **Erdős M.**, Notarangelo L.: Retrospective diagnosis of CD40 ligand deficiency in a Hungarian family. International Symposium on Primary Immunodeficiency Diseases. Debrecen, Hungary, 2002.
4. **Erdős M.**, Forveille M., Durandy A., Maródi L.: Activation-induced cytidine deaminase deficiency in three siblings with hyper-IgM syndrome. Xth Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Weimar, Germany, 2002.
5. Moskwa P., Palicz A., Ligeti E., **Erdős M.**, Maródi L.: Glucocerebroside inhibits NADPH oxidase activation in cell-free system. 32nd Annual Meeting of the International Society for Experimental Hematology (ISEH). Paris, France, 2003.
6. **Erdős M.**, Lung-Ku C., Bossuyt X., Casanova JL., Maródi L.: Invasive pneumococcal disease in a 6 year-old child with IRAK-4 deficiency and anti-polysaccharide antibody deficiency. 1st international Conference on Basic and Clinical Immunogenomics (BCI). Budapest, Hungary, 2004.
7. **Erdős M.**, Lung-Ku C., Bossuyt X., Casanova JL., Maródi L.: Invasive pneumococcal disease in a 6 year-old child with IRAK-4 deficiency and anti-polysaccharide antibody deficiency. XIst Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Paris, France, 2004.
8. **Erdős M.**, Úzvölgyi É., Nemes Z., Török O., Rákóczi É., Went-Sümegei N., Sümegei J., Maródi L.: Characterization of a new disease causing mutation in the SAP protein observed in a family with X-linked lymphoproliferative disease. XIst

- Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Paris, France, 2004.
9. **Erdős M.**, Maródi L.: Clinical manifestations in hyper-IgE syndrome. European Society for Pediatric Hematology and Immunology (ESPHI) Biannual Meeting, Molecular Genetics in Pediatric Hematology and Immunology. Budapest, Hungary, 2005.
 10. Alapi K., **Erdős M.**, Maródi L.: Mutation analysis in three Hungarian families with Wiskott-Aldrich syndrome. European Society for Pediatric Hematology and Immunology (ESPHI) Biannual Meeting, Molecular Genetics in Pediatric Haematology and Immunology. Budapest, Hungary, 2005.
 11. Dobay O., **Erdős M.**, Szabó J., Borbély Á., Rozgonyi F., Nagy K., Maródi L.: Repeated isolation of a genetically identical *Pneumococcus* from a child suffering from IRAK-4 deficiency. European Society of Clinical Microbiology and Immunodeficiency. Nizza, France, 2006.
 12. **Erdős M.**, Alapi K., Kovács G., Tóth B., Maródi L.: Recurrent c.1000C>T CXCR4 sequence variant in a girl with incomplete WHIM syndrome. XIIth Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Budapest, Hungary, 2006.
 13. **Erdős M.**, Maródi L.: Clinical manifestations of hyper-IgE syndrome: Association of HIGE with necrotizing fasciitis. XIIth Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Budapest, Hungary, 2006.
 14. **Erdős M.**, Péter M. jr., Rákóczi É., Kovács G., Tóth B., Maródi L.: Hepatic variant of chronic granulomatous disease. XIIth Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Budapest, Hungary, 2006.
 15. **Erdős M.**, Varga L., Kovács G., Maródi L.: Type 1 C2 deficiency in a boy with recurrent bacterial infections. XIIth Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Budapest, Hungary, 2006.
 16. Simon G., **Erdős M.**, Maródi L.: Invasive *Cryptococcus laurentii* disease in a 9-year-old boy with X-linked hyperimmunoglobulin M syndrome. XIIth Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Budapest, Hungary, 2006.

Magyar nyelvű poszterek

1. Alapi K., Gulácsy V., **Erdős M.**, Török O., Ochs H., Maródi L.: A gDNA-mutációanalízis Wiskott-Aldrich-szindrómában. Magyar Immunológiai Társaság XXXV. Vándorgyűlése, Sopron, 2005.

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Megköszönöm *Maródi László professzor úrnak*, témavezetőmnek munkámhoz nyújtott támogatását és segítségét. Irányításával az immunológiai és infektológiai kórképek széles spektrumát ismerhettem meg és lehetőséget kaptam arra, hogy a klinikai munka mellett molekuláris genetikai kutatómunkát is végezhessenek.

Hálás vagyok a szerzőtársak: *Prof. Anne Durandy, Prof. Sümegei János, Prof. Jean-Laurent Casanova, Dr. Rákóczi Éva, Dr. Úzvölgyi Éva, Dr. Török Olga, Dr. Simon Gábor, Dr. Simon Gyula és Dr. Balogh István* tudományos együttműködéséért.

A molekuláris genetikai és az immunkémiai vizsgálatok elvégzésében segítségemre voltak: *Alapi Krisztina biológus, Taskó Szilvia, Molnár Piroska és Kovács Gabriella* asszisztensek. Köszönöm segítőkészségüket, precíz, gyors és megbízható munkájukat.

Külön hálával tartozom, az Infektológiai és Gyermekimmunológiai Tanszék orvosainak és nővéreinek, hogy kutatómunkámat kedvességükkel segítették.

Külön köszönettel tartozom a betegeknek és családtagjaiknak, megértésükért és segítőkész együttműködésükért.

Köszönöm *édesanyám* türelmét, szeretetteljes támogatását, megértését és pozitív kritikáit.