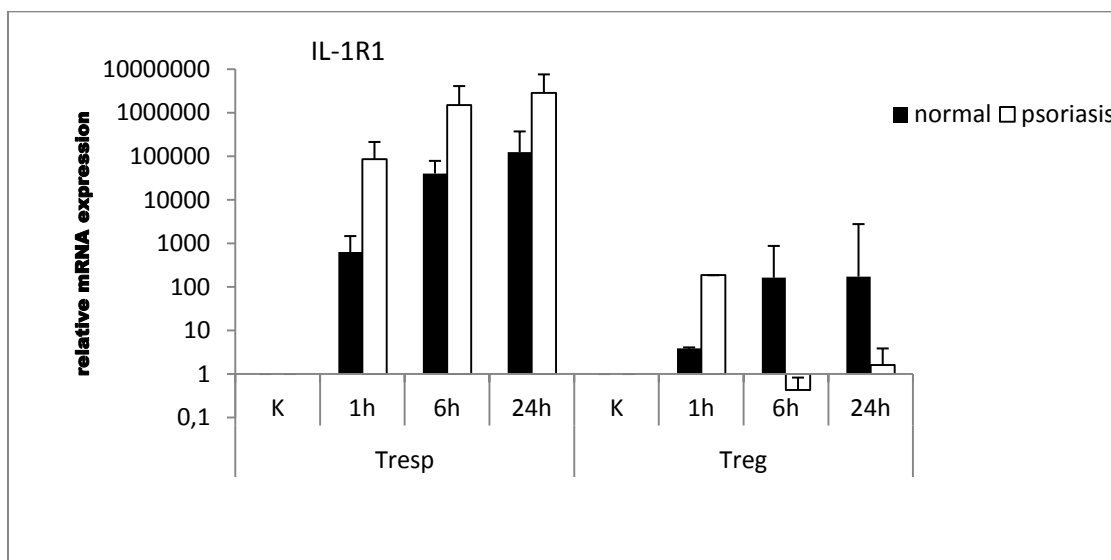


Zárójelentés a 73548 számú (Gyulai Rolland és munkatársai: A psoriasis patogenezisének és a CD4+CD25+ regulátoros T sejtek funkciójának vizsgálata gén-chip eredmények alapján) című OTKA projekthez.

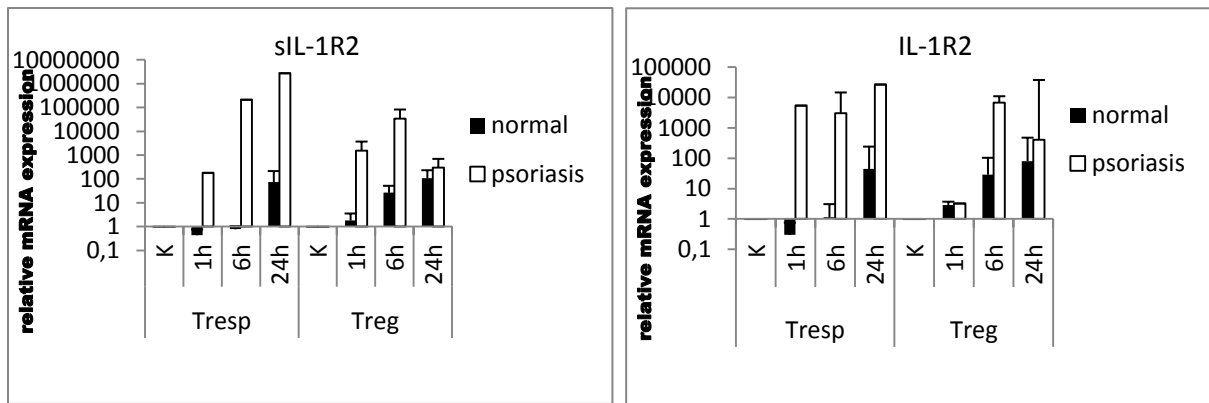
I. Az interleukin 1 receptorok expressziója normál és psoriasisos T sejteken

a) Az interleukin 1 receptor család (IL-1 receptor I (IL-1RI), II (IL-1RII), szolubilis IL-1 receptor II (sIL-1RII), IL-1 antagonist (IL-1N) mRNS expressziójának meghatározása CD4+CD25+ és CD4+CD25- sejteken stimulációt követően real-time quantitative PCR technikával.

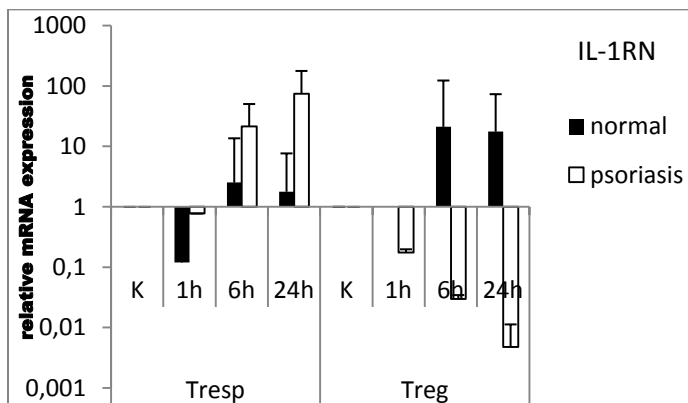
Vizsgálataink során összehasonlítottuk a normál és a psoriasisos CD4+CD25+ és CD4+CD25- sejtekben az IL-1 receptorok mRNS expresszióját. Az egyes típusú IL-1 receptor (IL-1R1) kifejeződésének CD3/CD28 aktivációt követően hasonlóan változik a normál és a psoriasisos CD4+CD25- responder T sejtekben, az aktivált psoriasisos CD4+CD25+CD127-regulátoros T sejtekben azonban az IL-1R1 mRNS szintje elmarad a normál sejtekben tapasztaltától.



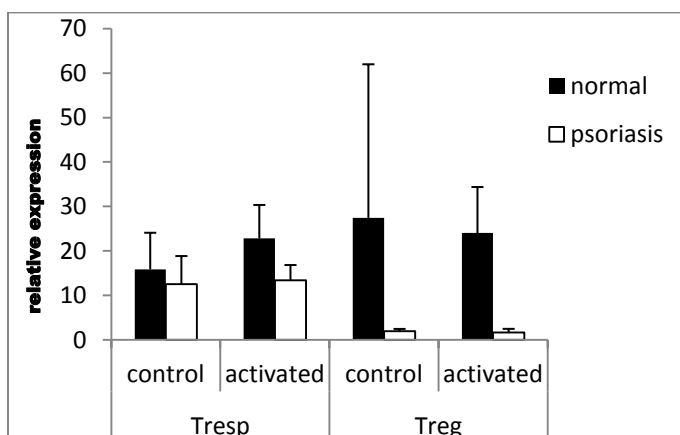
A kettes típusú IL-1 receptor (IL-1R2) és ennek szolubilis formája (sIL-1R2) csak a CD3/CD28 aktivációt követően 24 óra múlva expresszálódik nagyobb mértékben normál responder T sejtekben, míg psoriasisos sejtekben az IL-1R2 1 óra aktiváció után is jelentősen nő, azután viszont nem változik. A sIL-1R2 mRNS kifejeződése a psoriasisos aktivált responder T sejtekben folyamatos emelkedést mutat. A normál és psoriasisos regulátoros T sejtekben az IL-1R2 expressziója hasonlóan alakul CD3/CD28 aktivációt követően. A sIL-1R2 mRNS szintje viszont a normál regulátoros T sejtekben aktiváció hatására folyamatosan emelkedik, a psoriasisos regulátoros T sejtekben rövid emelkedés után visszaesik.



Az IL-1 receptor antagonist (**IL-1RN**) mRNS expressziója mind a normál, mind a psoriasisos responder T sejtekben alacsony, normál regulátoros T sejtekben CD3/CD28 aktiváció hatására emelkedést mutat szemben a psoriasisos regulátoros T sejtekkel, ahol a gén expressziója csökkent az aktivációt követően.



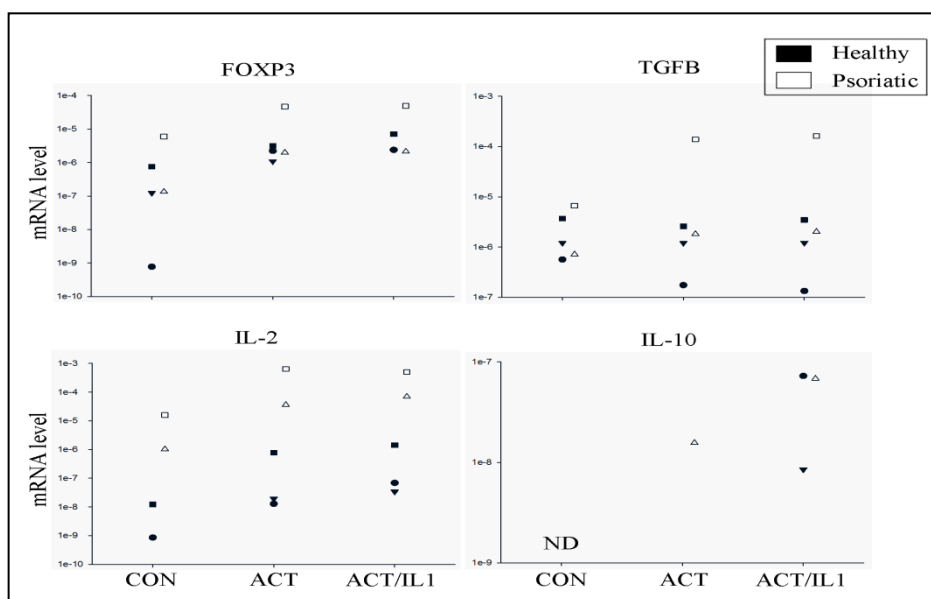
Az IL-1R2 fehérje kifejeződésében nincs számottevő különbség a normál és a psoriasisos responder T sejtek között, a psoriasisos regulátoros T sejtekben azonban jelentősen alacsonyabb az IL-1R2 fehérje szintje, összehasonlítva a normál regulátoros T sejtekkel.



Az IL-1R2 és az IL-1RN expressziója főként a normál és psoriasisos regulátoros T sejtekben tér el jelentősen egymástól. Eredményeink azt sugallják, hogy ezek a molekulák szerepet játszhatnak a psoriasis pathogenezisében.

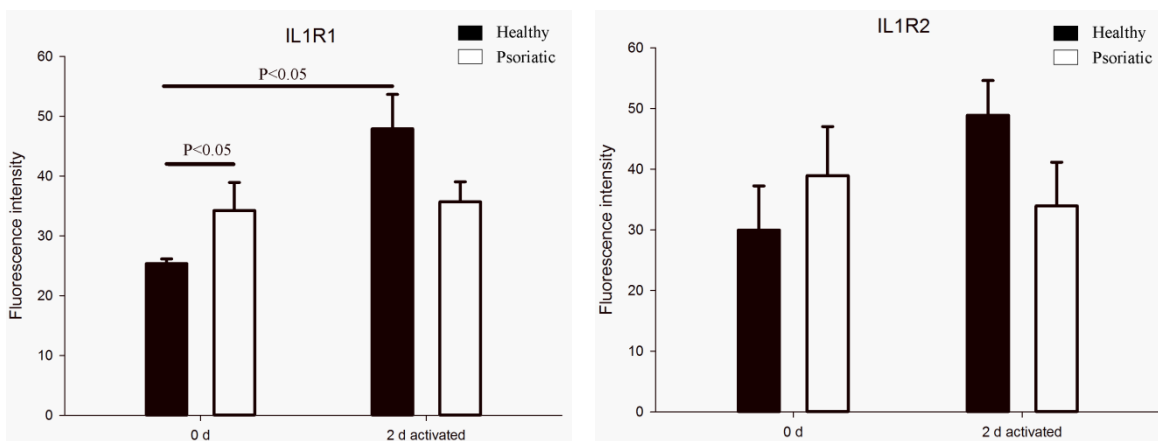
b) Az IL-1 hatása a CD4+CD25+ Treg sejtek IL-2, IL-10, FOXP3 és TGFB mRNS szintű kifejeződésére

Az áramlási citométerrel való Treg szortolás technikai nehézségekbe ütközött, az alkalmazott szortolási módszerrel nem jutottunk megfelelő mennyiségű sejthez a valós idejű PCR vizsgálatokhoz. Anti-CD25 konjugált mágneses gyöngyökkel nagymértékben dúsítottuk a Treg populációt, amely ugyan elmarad a kívánt tisztaságtól (40-70% CD25 magasan pozitív sejtek aránya), azonban összehasonlítva a CD25-, Treg sejteket nem tartalmazó mintákkal jelentős különbség volt kimérhető a nyugvó Treg sejtekre jellemző FOXP3 mRNS szintű kifejeződésében. A Treg dúsított sejteket két napon keresztül aktiváltuk 10 U/ml IL-2 jelenlétében anti-CD3/CD28 gyöngyökkel (ACT). Az aktivált sejtek egyik felét 10 ng/ml IL-1 β citokinnel kezeltük (ACT/IL1). Kontrollként nem aktivált mintákat is vizsgáltunk, amelyet csak IL-2 citokinnel kezeltünk (CON). Két nap elteltével a sejtekből totál RNS-t izoláltunk majd cDNS szintézist követően valós idejű PCR segítségével mértük meg a FOXP3, TGFB, IL-2 és IL-10 gének kifejeződését. Egészséges személyekből (n=3) származó Treg sejtekben a FOXP3 mRNS szintje az aktiválás hatására jelentősen nőtt (4-14-szeres emelkedés). Az IL-1 β kezelés mellett további igen kismértékű, nem jelentős emelkedés volt megfigyelhető. A TGFB gén kifejeződése nem változott az aktiváció hatására, illetve egyik donor esetén a kontrollhoz képest 30,99%-ra (ACT) és 23,65%-ra (ACT/IL1) csökkent. Az IL-2 gén kifejeződése nagymértékű indukciót mutatott aktiválást követően, az IL-1 β kezelés mellett további 2,98-szoros emelkedés jelentkezett az ACT-hoz képest. Az IL-10 gén kifejeződését nem tudtuk kimutatni sem a kontroll, sem az aktivált mintákban, azonban IL-1 β hatására az esetek többségében kismértékben indukálódott a gén expressziója. Pikkelysömörös betegekből eddig 2 független minta esetén végeztük el a vizsgálatot, további beteg minta gyűjtése folyamatban van. A FOXP3 és az IL-2 gének kifejeződése hasonlóan alakult az aktiváció és az IL-1 β hatására, ugyanakkor az IL-2 esetében az egészséges Treg-hez képest jóval magasabb mRNS szintet detektáltunk már a kontrollban is, ami tovább nőtt aktiváció hatására. A TGFB gén expressziójában az egészséges Treg-el ellentétben emelkedést figyeltünk meg az aktiváció hatására, erre az IL-1 β nem volt hatással.



c) A sejtfelszíni IL-R1 és IL1-R2 receptor-expresszió intenzitásának változása.

Az egészséges és pikkelysömörös CD4+ T sejtek sejtfelszíni IL1-R1 és IL1-R2 expresszióját áramlási citométerrel határoztuk meg. A mágneses alapú negatív szelekciót követően a CD4+ populáción belül elkülönítettük a naív, a memória, valamint a regulátoros T sejtek (Treg) szubpopulációit CD45RO és CD25 jelöléseket alkalmazva. A sejteket két napon keresztül aktiváltuk IL-2 jelenlétében anti-CD3/CD28 gyöngyök segítségével. Az aktivált CD4+ T sejtekben a szubpopulációk elkülönítésére a CD45RO és GARP fehérjéket jelöltük meg, a sejtfelszíni GARP kifejeződés aktivált Treg sejtekre jellemző (Wang és mtsai, 2009). A Treg sejtekben az aktivációt követően igen nagymértékben emelkedett az IL1R1 és az IL1R2 pozitív sejtek aránya mind a pikkelysömörös, mind az egészséges mintákban. A receptorok expressziójának intenzitásának összehasonlítását is elvégeztük, amelyhez a pozitív sejtek fluoreszcencia intenzitását vettük alapul. A funkcionális IL1R1 fehérje sejtfelszíni kifejeződésének intenzitása (1.a ábra) szignifikánsan magasabb volt pikkelysömörös Treg sejtekben az egészséges Treg-hez képest ($P < 0,05$). Pikkelysömörös Treg-ben az aktivációt követően nem figyeltünk meg változást a pozitív sejtek fluoreszcencia intenzitásában. Egészséges Treg sejtekben jelentősen emelkedett az IL1R1 expresszió intenzitása az aktivációt követően ($P < 0,05$). A decoy IL1R2 intenzitása hasonlóan változott (1.b ábra) de a megfigyelt különbség nem bizonyult szignifikánsnak.

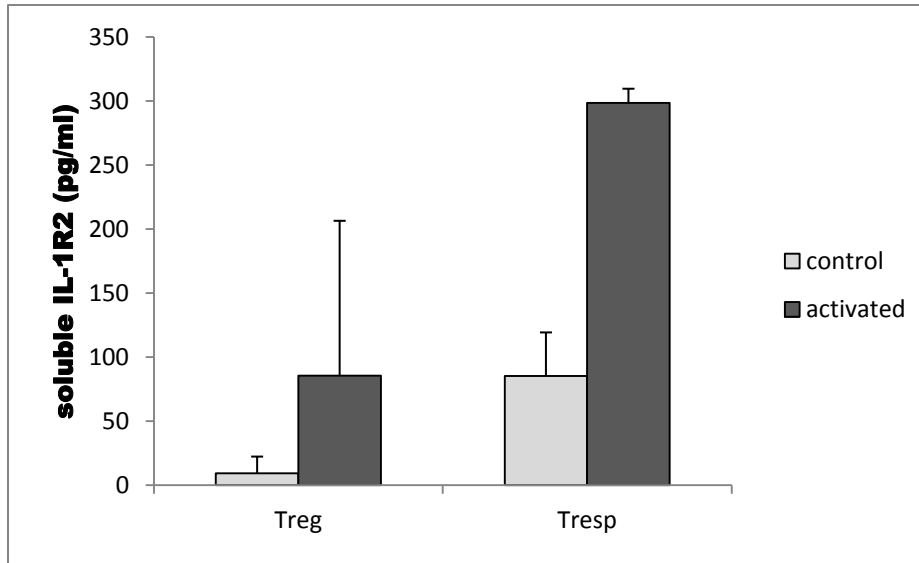


Az IL1-R1 és IL1-R2 receptorok sejtfelszíni expressziójának intenzitása normál és psoriasisos Treg sejtekben.

d) A solubilis IL-1R2 jelenlétének meghatározása aktivációt követően CD4+CD25+ és CD4+CD25- sejtek felülúszójából ELISA módszerrel.

Mivel a kettes típusú IL-1 receptor szolubilis formában (sIL-1R2) is előfordul vagy külön génről szintetizálódva, vagy a sejtfelszíni molekula leválásával, megvizsgáltuk az izolált sejtek felülúszójában a sIL-1R2 fehérje szintjét ELISA technikával. A normál és pikkelysömörös mintákból izolált kontrol és aktivált sejteket 3 napig inkubáltuk, majd a felülúszókat összegyűjtöttük, lefagyasztottuk. Az aktiváció anti CD3/CD28 beaddel történt. A normál és pikkelysömörös T sejtek által a felülúszóba szekretált sIL-1R2 fehérje mennyisége között nem találtunk szignifikáns különbséget. A normál CD4+ sejtek szignifikánsan nagyobb mennyiségű sIL-1R2 fehérjét szekretálnak a felülúszóba, mint a normál Treg sejtek. Ez a

különbség nem mutatkozik a pikkelysömörös sejtek között. A normál és pikkelysömörös sejtek között viszont a receptor mRNS expressziójában sem tudtunk kimutatni jelentős különbséget, ami összhangban van a fehérjével kapott eredményeinkkel.



e) A CD4⁺CD25⁺ sejtek CD4⁺CD25⁻ sejtekre gyakorolt proliferációt gátló tulajdonságának vizsgálata IL-1 jelenlétében funkcionális assay (kevert lymphocytás reakció - MLR) segítségével.

Egészséges önkéntesektől származó izolált CD4⁺ T sejteket CD3/CD28 bead aktiváció mellett azonos donortól származó Treg sejtekkel inkubáltuk együtt, majd a sejtproliferációt MTT assay módszerrel vizsgáltuk. A CD4⁺ és Treg sejtek arányát előzetes kísérletek alapján 3:1-ben, az alkalmazott rekombináns IL-1 koncentrációját 0,1 ng/ml-ben állapítottuk meg. A CD4⁺ T sejtek CD3/CD28 bead jelenlétében fokozott aktivitást mutattak, a hozzáadott IL-1 a proliferációt kismértékben csökkentette az aktiválthoz képest, míg a Treg sejtek esetében ellenkező hatása volt. A kevert limfocita reakciókban az aktivált állapotban mért proliferációnál alacsonyabb értékeket mértünk IL-1 jelenlétében. A kevert limfocita reakcióban tapasztalt proliferáció csökkenés magyarázható azzal, hogy a target sejtek aktivitását nagyobb mértékben gátolták a Treg sejtek IL-1 jelenlétében.

Összefoglalva: A jelátvitelben szerepet játszó IL-1 receptor (IL-1R1) mRNS-ének relatív expressziója magasabb nyugvó psoriasisos effektor és regulátoros T sejtekben. Aktiváció hatására az IL-1R1 fehérje kifejeződése jobban megemelkedik psoriasisos T sejtekben, mint normál T sejtekben. A psoriasisos regulátoros és effektor T sejtekben aktiváció hatására a jelátvitelben szerepet nem játszó IL-1 receptor (IL-1R2) mRNS expressziója jelentősebben megnő, mint az egészséges T sejtekben. A psoriasisos T sejtek valamivel több szolubilis IL-1R2-t bocsátanak ki a környezetükbe, mint az egészséges T sejtek. Az IL-1 receptorok expressziójának T sejteken észlelt eltérései szerepet játszhatnak a psoriasis kialakulásában. Eredményeinket az alábbi közleményben publikáltuk:

Bebes Attila, Kovács-Sólyom Ferenc, Prihoda Judit, Kui Róbert, Kemény Lajos, Gyulai Rolland: Interleukin-1 receptors are differentially expressed in normal and psoriatic T cells

MEDIATORS OF INFLAMMATION 2014: Paper 472625. 9 p. (2014) IF: 3.882

II. Az ARTS-1 (aminopeptidase regulator of tumor necrosis factor receptor 1 shedding) gén expressziójának és polimorfizmusainak vizsgálata psoriasisban

a) Az ARTS-1 (aminopeptidase regulator of tumor necrosis factor receptor 1 shedding) mRNS expressziójának meghatározása psoriasisos és normál CD4+CD25+CD127- és CD4+CD25- sejteken real-time quantitative PCR technikával.

Egészséges egyének véréből izolált CD4+CD25- T-lymphocyták ARTS-1 gén expressziója 5,6-szor magasabb, mint a regulátoros (CD4+CD25+CD127-) T sejteké. Psoriasisos betegek effektor (CD4+CD25-) T sejtjei esetén az ARTS gén expressziója ugyanakkor jóval nagyobb mértékben, 106-szor magasabb, mint az ugyanazon betegtől származó CD4+CD25+CD127- T sejteké.

b) Az ARTS-1 (aminopeptidase regulator of tumor necrosis factor receptor 1 shedding) gén polimorfizmusának vizsgálata normál és psoriasisos mintákban.

ARTS-1 (Aminopeptidase Regulator of TNFR1 Shedding) egy az ötös kromoszóma q15-ös részén található gén által kódolt aminopeptidáz, melynek funkciója a shedding, mely során az aminopeptidáz leválasztja a proinflammatorikus citokin-receptorok (pl.:IL-1/6R, TNF α R) extracelluláris részét. A levágott rész az extracelluláris térbe kerül, ahol a keringő citokineket képes megkötni, így csökkenti azok keringő szabad mennyiségét. Vizsgálataink során 214 pikkelysömörös és 105 arthritis psoriaticás beteg vérmintáit használtuk fel. Kontrollcsoportba 200 egészséges személyt választottunk. A vérmintákból genomikus DNS-t izoláltunk. A DNS mintákon PCR reakciót végeztünk, melyhez TaqMan próbát használtunk. Az arthritis psoriaticában szenvedő betegeket a betegség lokalizációja szerint a Moll-Wright-féle klasszifikáció segítségével öt alcsoportba osztottuk: szimmetrikus poliartthritis, aszimmetrikus oligoarthritis gerincérintettséggel illetve gerincérintettség nélkül és axiális forma. Az eredményeket az alábbi táblázatban tüntettük fel:

Az ARTS-1 SNP genotípusok disztribúciója egészségeseken és psoriasisos betegeken

SNP	Egészséges kontroll (N=200)			Psoriasis (N=319)			
	WT	Het	Hom rare	WT	Het	Hom rare	p
rs27524	88 (44)	93 (46.5)	19 (9.5)	125 (39.2)	152 (47.6)	42 (13.2)	0.3439
rs27525	55 (27.5)	145 (72.5)	0 (0)	108 (33.9)	211 (66.1)	0 (0)	0.1289
rs30187	84 (42)	102 (51)	14 (7)	125 (39.2)	158 (49.5)	36 (11.3)	0.2673
rs17482078	121 (60.5)	74 (37)	5 (2.5)	210 (65.8)	93 (29.2)	16 (5)	0.0897
rs10050860	118 (59)	79 (39.5)	3 (1.5)	207 (64.9)	97 (30.4)	15 (4.7)	0.0259

SNP	Psoriasis arthritis nélkül (N=214)				Arthritis psoriatica (N=105)			
	WT	Het	Hom rare	p	WT	Het	Hom rare	p
rs27524	85 (39.7)	104 (48.6)	25 (11.7)	0.6028	40 (38.1)	48 (45.7)	17 (16.2)	0.2026
rs27525	66 (30.8)	148 (69.2)	0 (0)	0.4551	42 (40)	63 (60)	0 (0)	0.0259
rs30187	82 (38.3)	111 (51.9)	21 (9.8)	0.5136	43 (40.9)	47 (44.8)	15 (14.3)	0.1102
rs17482078	135 (63.1)	69 (32.2)	10 (4.7)	0.3436	75 (71.4)	24 (22.9)	6 (5.7)	0.0195
rs10050860	132 (61.7)	72 (33.6)	10 (4.7)	0.1103	75 (71.4)	25 (23.8)	5 (4.8)	0.0072

WT, mindkét allél vad típusú; Het, csak az egyik allél vad típusú; Hom rare, egyik allél sem vad típusú; [N, (%)]

Az ARTS-1 gén rs27524 és rs30187 számú polimorfizmusainak vizsgálatokor nem találtunk különbséget a betegek és a kontroll csoport között. Az rs27525, az rs17482078 és az rs10050860 jelű polimorfizmusok vizsgálatokor statisztikailag szignifikáns különbséget ($p=0,0119$) találtunk az egészségesek és az arthritis psoriaticás betegek között. Az arthritises betegek között kisebb arányban fordulak elő a gén ritka alléljai, mint az egészségesek között, így feltételezhetjük, hogy a gén ritka alléljai protektív tényezőként szerepelhet a betegség kialakulásával szemben. A betegek alcsoportjait vizsgálva szignifikáns különbséget ($p=0,0213$) találtunk az axiális érintettség nélküli aszimmetrikus oligoarthritisben szenvedő betegek esetében is. Az allélfrekvenciákat vizsgálva a különbségek szintén megfigyelhetők voltak ($p=0,0331$, $p=0,0403$). Eredményeink arra utalnak, hogy az ARTS-1 gén rs17482078 jelű polimorfizmusa protektív szerepet játszhat az arthritis psoriatica gerincérintettség nélküli aszimmetrikus oligoarthritis formájának kialakulásával szemben. A gén vizsgált polimorfizmusai ugyanakkor nem játszanak szerepet a csak bőrtüneteket okozó psoriasis kialakulásában. Az eredmények publikálása jelenleg folyamatban van.

III. A tumor nekrozis faktor szupercsalád 15-ös tagjának (TNFSF15) gén polymorphismus vizsgálata psoriasisban és arthritis psoriaticában

Korábbi vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az ARTS-1 gén rs17482078 jelű polimorfizmusa protektív szerepet játszhat az arthritis psoriatica gerincérintettség nélküli aszimmetrikus oligoarthritis formájának kialakulásával szemben. Az ARTS-1 gén polymorphismusainak vizsgálata mellett elvégeztük a tumor nekrozis faktor szupercsalád 15-ös tagjának (TNFSF15), másnéven TNF szupercsalád ligand A (TL1A) gén polymorphismusainak vizsgálatát, illetve az eredmények korreláltatását a betegek klinikai alcsoportjaival. A TNFSF15 egy a kilences kromoszóma q32-s részén található gén által kódolt protein, mely gátolja az endothel sejtek differenciálódását, fokozza a T sejtek aktiválódását és Th1 citokin termelését, valamint a serkenti a dendritikus sejtek érését. Közelmúltban közölt eredmények szerint a TNFSF15 szerepet játszik a gyulladással járó bélbetegségek, a rheumatoid arthritis és a krónikus gyulladással járó bőrbetegségek patogenezisében.

Módszerek:

Vizsgálataink során 214 ízületi érintettség nélküli psoriasis vulgarisban és 105 arthritis psoriaticában szenvedő beteg vérmintáit használtuk fel. Az arthritis psoriaticában szenvedő betegeket a betegség lokalizációja szerint a Moll-Wright-féle klasszifikáció segítségével öt alcsoportba osztottuk: szimmetrikus poliartitis, aszimmetrikus oligoarthritis gerincérintettséggel illetve gerincérintettség nélkül és axiális forma. Kontrollcsoportba 200 egészséges személyt választottunk. A vérmintákból genomikus DNS-t izoláltunk. A DNS mintákon PCR reakciót végeztünk, melyhez TaqMan próbát használtunk. Az alábbi polymorphismusokat vizsgáltuk:

SNPs	Position ^a	Nucleotide change
rs3810936	15524	G/A
rs6478108	9706	G/A
rs6478109	-358	T/C
rs7848647	-638	G/A
rs7869487	-12506	G/A

A polymorphismok alapján a betegeket az alábbi haplotípusokba soroltuk:

	rs3810936	rs6478108	rs6478109	rs7848647	rs7869487
Haplo. A	G	A	C	G	A
Haplo. B	A	G	T	A	G
Haplo. C	A	G	T	A	A

Eremények:

Az öt megvizsgált SNP genotípusos frekvenciáit az alábbi táblázatban foglaltuk össze:

	Healthy controls (N=200)			Psoriasis (N=319)				Psoriasis without arthritis (N=214)				Psoriatic arthritis (N=105)			
	WT	Het	Hom rare	WT	Het	Hom rare	p	WT	Het	Hom rare	p	WT	Het	Hom rare	p
rs3810936	102 (51)	79 (39.5)	19 (9.5)	171 (53.6)	123 (38.5)	25 (7.9)	0.7454	115 (53.7)	79 (36.9)	20 (9.4)	0.8473	56 (53.3)	44 (41.9)	5 (4.8)	0.3437
rs6478108	99 (49.5)	101 (50.5)	0 (0)	166 (52)	152 (47.7)	1 (0.3)	0.6104	115 (53.7)	99 (46.3)	0 (0)	0.3884	51 (48.6)	53 (50.5)	1 (0.9)	0.3834
rs6478109	38 (19)	162 (81)	0 (0)	33 (10.3)	286 (89.7)	0 (0)	0.0052	20 (9.4)	194 (90.6)	0 (0)	0.0046	13 (12.4)	92 (87.6)	0 (0)	0.1410
rs7848647	113 (56.5)	70 (35)	17 (8.5)	178 (55.8)	116 (36.4)	25 (7.8)	0.9317	119 (55.6)	75 (35)	20 (9.4)	0.9524	59 (56.2)	41 (39)	5 (4.8)	0.4393
rs7869487	66 (33)	81 (40.5)	53 (26.5)	102 (32)	124 (38.9)	93 (29.1)	0.8064	71 (33.2)	78 (36.4)	65 (30.4)	0.6104	31 (29.5)	46 (43.8)	28 (26.7)	0.8011

WT, both alleles are wildtype; Het, only one allele is wildtype; Hom rare, both alleles are not wildtype; listed as [N, (%)]

Az öt vizsgált SNP közül négy (rs3810936, rs6478108, rs7848647, rs7869487) esetén nem észleltünk szignifikáns eltéréseket az egészségesek és a betegek között. Az rs6478109 SNP genotípusos frekvenciája esetén ugyanakkor mind az egészségesek és psoriasisos vulgaris betegek, mind az egészségesek és arthritis psoriaticás betegek között szignifikáns különbség volt.

A haplotípusok megoszlását az alábbi táblázatban foglaltuk össze:

Haplotype	Healthy controls (N=200)	Psoriasis (N=319)		Psoriasis without arthritis (N=214)		Psoriatic arthritis (N=105)	
	Frequency	Frequency	p	Frequency	p	Frequency	p
A	83 (41.5)	130 (40.8)	0.8661	85 (39.7)	0.7123	45 (42.9)	0.8194
B	19 (9.5)	24 (7.5)	0.4266	14 (6.5)	0.2668	10 (9.5)	0.9946
C	7 (3.5)	1 (0.3)	0.0041	1 (0.5)	0.0250	0 (0)	0.0524

Frequency is listed as [N, (%)].

Az A és B haplotípusok tekintetében nem észleltünk eltérést az egészségesek és a betegek között. A C haplotípus gyakorisága ugyanakkor statisztikailag szignifikáns mértékben eltért az összes psoriasisos illetve az ízületi érintettség nélküli psoriasisos betegeken az egészséges kontrollokhoz képest.

Összefoglalva: A TNFSF15 gén rs6478109 SNP-je hozzájárulhat a psoriasisra való hajlamhoz. A C haplotípussal rendelkező egyének ugyanakkor bizonyos mértékben védettek a psoriasis kialakulásával szemben.

Eredményeinket az alábbi közleményben publikáltuk:

Képiró L, Széll M, Kovács L, Keszthelyi P, Kemény L, Gyulai R: Genetic risk and protective factors of TNFSF15 gene variants detected using single nucleotide polymorphisms in Hungarians with psoriasis and psoriatic arthritis.

HUMAN IMMUNOLOGY 75:(2) pp. 159-162. (2014) IF: 2.298

IV. A mutáns citrullinált vimentin ellenes antitestek szérumszintjének vizsgálata psoriasisban

A citrullinált protein-ellenes antitestek (ACPA) közé tartozó mutáns citrullinált vimentin ellenes antitestek (anti-MCV) a korai rheumatoid arthritis (RA) szenzitív biomarkerei. Újabb kutatások eredményei azonban arra utalnak, hogy az enzimatis citrullináció és az ACPA termelés más gyulladásos ízületi betegségek során is előfordulhatnak. Mivel az anti-MCV antitestek előfordulását arthritis psoriaticában (PsA) széles körben még nem vizsgálták, valamint a PsA diagnosztikájában nagy igény lenne új és szenzitív biomarkerek alkalmazhatóságára, ezért megvizsgáltuk arthritis psoriaticában és ízületi érintettséggel nem bíró psoriasis vulgarisban szenvedő betegek szérumszintjében. Továbbá az anti-MCV autoantitest titer és a betegek klinikai és laboratóriumi jellemzői között további összefüggéseket kerestünk.

Módszerek:

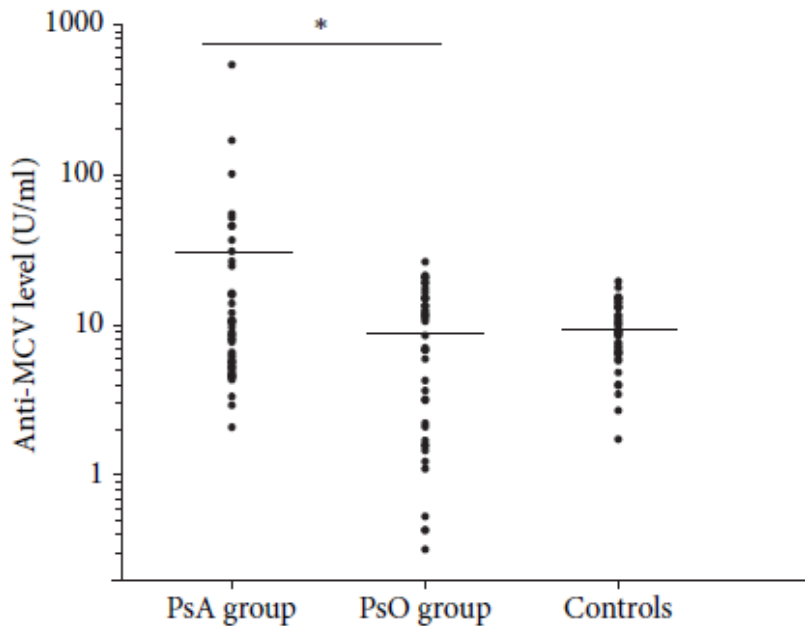
Vizsgálataink során 42 ízületi érintettség nélküli psoriasis vulgarisban (PsO) és 46 arthritis psoriaticában (PsA) szenvedő beteg vérmintáit használtuk fel. Az arthritis psoriaticában szenvedő betegeket a betegség lokalizációja szerint a Moll-Wright-féle klasszifikáció segítségével öt alcsoportba osztottuk: szimmetrikus poliartthritis, aszimmetrikus oligoarthritis gerincérintettséggel illetve gerincérintettség nélkül és axiális forma. Kontrollcsoportba 40 egészséges személyt választottunk.

Az anti-MCV IgG antitestek meghatározása ELISA (ORG 548 Anti-MCV; Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Németország) kit használatával történt, amely antigénként rekombináns MCV-t tartalmaz. Az antitest meghatározás a gyártó által ajánlott protokoll szerint történt. A cutoff érték 20 U/ml volt. Az anti-MCV pozitivitás és a különböző klinikai paraméterek közti asszociációk statisztikai elemzése során Fischer exact tesztet alkalmaztunk.

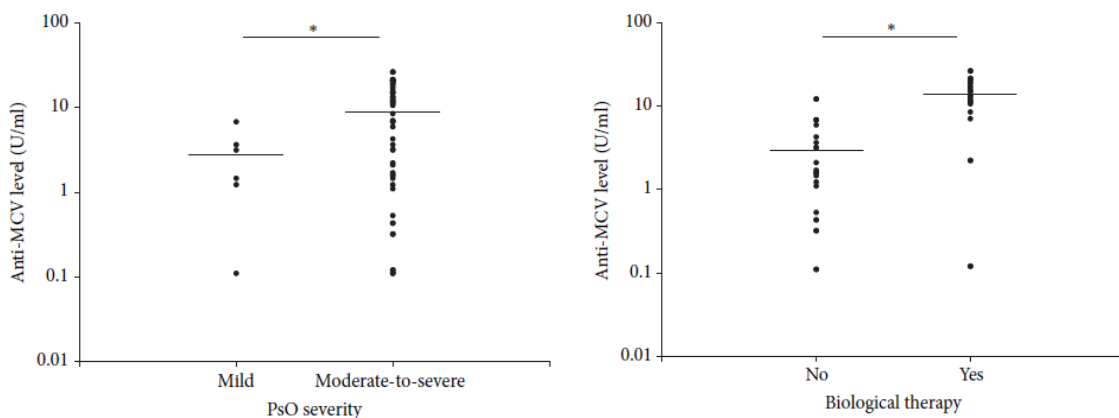
Eredmények:

a. Az anti-MCV titer szignifikánsan magasabb PsA-ban mint PsO-ban vagy a kontroll populációban. A PsA csoportban az átlagos antitest titer $30,32 \pm 82,14$ U/ml volt, szemben a PsO csoport $8,71 \pm 7,41$ U/ml és a kontroll csoport $9,50 \pm 4,23$ U/ml szintjével. A PsA betegek között 11 anti-MCV pozitív esetet találtunk (24%), míg az ízületi tünetekkel nem rendelkező

psoriasisos betegek közül mindössze 3 (8%), a kontroll csoport egyedei közül egy sem bizonyult anti-MCV pozitívnek ($P = 0,032$ és $P = 0,0009$).



b. A magasabb anti-MCV titer súlyosabb betegség lefolyást és korai betegség kezdetet jelez psoriasis vulgarisban. A súlyos és enyhe psoriasisos betegek anti-MCV szérumszintje között jelentős, szignifikáns eltérést észleltünk ($9,73 \pm 7,54$ U/ml vs. $2,73 \pm 2,37$ U/ml, $P = 0,033$). Továbbá, a biológiai terápiával kezelt (azaz súlyosabb) psoriasisos betegek esetén szintén magasabb értékeket észleltünk, mint a biológiai terápiát nem igénylő betegek között ($14,01 \pm 6,22$ U/ml vs. $3,01 \pm 3,34$ U/ml, $P < 0,01$). Azoknál a betegeknél, akiknek psoriasisusa 30 éves kor előtt kezdődött, szignifikánsan magasabb anti-MCV értékeket mértünk ($P=0,019$). Hasonló összefüggést nem észleltünk a PsA csoport analízise során ($P=0,096$).



c. *Fájdalmas térdizületek és körömtünetek jelenléte esetén magasabbak az anti-MCV értékek PsA-ban.* A klinikai és laboratóriumi paraméterek és az anti-MCV pozitivitás korrelációja során csak két változó esetén észleltünk statisztikailag szignifikáns eltéréseket. Fájdalmas térdizületek esetén mind az anti-MCV pozitivitás gyakorisága (63,64% vs. 25,71%, P = 0,032), mind az anti-MCV antitest titer ($61,18 \pm 133,76$ U/ml vs. $13,87 \pm 20,22$ U/ml, P = 0,013) jóval magasabb volt. Ehhez hasonlóan a psoriasisos körömtünetekkel bíró betegek esetén az anti-MCV pozitivitás gyakorisága szignifikánsan magasabb volt, mint körömtünetek hiánya esetén (63,64% vs. 17,14%, P = 0,006).

Összefoglalva, az RA korai diagnosztikájában jól használható anti-MCV autoantitestek jelenléte alkalmas lehet a PsA és a PsO szerológiai differenciálására, illetve vizsgálata segítséget nyújthat bizonyos (pl. korai kezdetű, súlyosabb lefolyású) psoriasis alcsoportok elkülönítésében is.

Eredményeinket az alábbi közleményben publikáltuk:

Dalmády S, Kiss M, Képiró L, Kovács L, Sonkodi G, Kemény L, Gyulai R: Higher levels of autoantibodies targeting mutated citrullinated vimentin in patients with psoriatic arthritis than in patients with psoriasis vulgaris.

CLINICAL AND DEVELOPMENTAL IMMUNOLOGY 2013: Paper 474028. 9 p. (2013) IF: 3.064

A támogatással megjelent közlemények és idézhető absztraktok jegyzéke

1. Gyulai R, Gaál M, Tabák R, Bali G, Kui R, Bata-Csörgő Zs, Kemény L: Citokinek, kemokinek és terápiás befolyásolásuk lehetőségei psoriasisban. *Cytokines, chemokines and their therapeutic manipulation in psoriasis*, *Bőrgyógy Vener Szle* 85: 37-41, 2009
2. Kovács-Sólyom F, Prihoda J, Kemény L, Gyulai R: The role of interleukin-1 and interleukin-1 receptors in regulatory T cell functions, *J Invest Dermatol* 129, Suppl 2: S13, 2009
3. Kovács Sólyom F, Prihoda J, Kemény L, Gyulai R: Differential expression of interleukin-1 receptor in normal and psoriatic T lymphocytes, *J Invest Dermatol* 130. Suppl 2, S41, 2010
4. Dalmády S, Kiss M, Képiró L, Kovács L, Sonkodi G, Kemény L, Gyulai R: Higher levels of autoantibodies targeting mutated citrullinated vimentin in patients with psoriatic arthritis than in patients with psoriasis vulgaris. **CLINICAL AND DEVELOPMENTAL IMMUNOLOGY 2013:** Paper 474028. 9 p. (2013) IF: 3.064
5. Képiró L, Széll M, Kovács L, Keszthelyi P, Kemény L, Gyulai R: Genetic risk and protective factors of TNFSF15 gene variants detected using single nucleotide polymorphisms in Hungarians with psoriasis and psoriatic arthritis. **HUMAN IMMUNOLOGY 75:**(2) pp. 159-162. (2014) IF: 2.298
6. Bebes Attila, Kovács-Sólyom Ferenc, Prihoda Judit, Kui Róbert, Kemény Lajos, Gyulai Rolland: Interleukin-1 receptors are differentially expressed in normal and psoriatic T cells **MEDIATORS OF INFLAMMATION 2014:** Paper 472625. 9 p. (2014) IF: 3.882
7. László Képiró; Márta Széll; László Kovács; Péter Keszthelyi; Lajos Kemény; Rolland Gyulai: ARTS-1 gene polymorphisms in psoriasis and psoriatic arthritis (manuscript in preparation)

A munka anyagából bemutatott poszterek, előadások:

1. 39th Annual ESDR Meeting, EIS Meeting 2009.09.09-12. előadás: Ferenc Kovács-Sólyom, Judit Prihoda, Lajos Kemény, Rolland Gyulai. The role of interleukin-1 and the interleukin-1 receptors in regulatory T cell functions
2. MDT 82. Nagygyűlése, 2009.12.10-12. poszter: Kovács-Sólyom Ferenc, Prihoda Judit, Kemény Lajos, Gyulai Rolland. Az interleukin-1 és az interleukin-1 receptorok szerepének vizsgálata a regulátoros T sejtek funkciójában
3. MIT Ifjúsági kongresszus, 2009. október 29-30. előadás: Kovács-Sólyom Ferenc, Prihoda Judit, Kemény Lajos, Gyulai Rolland. Az interleukin-1 és az interleukin-1 receptorok expressziójának és funkciójának vizsgálata regulátoros T sejtekben
4. 40th ESDR Meeting, 2010.09.08-11. poszter: Ferenc Kovács-Sólyom, Judit Prihoda, Lajos Kemény, Rolland Gyulai. Differential expression of interleukin-1 receptors in normal and psoriatic T lymphocytes
5. MDT 83. Nagygyűlése, 2010. december 9-11. poszter: Kovács-Sólyom Ferenc, Prihoda Judit, Kemény Lajos, Gyulai Rolland. Az interleukin-1 receptor család eltérő expressziója normál és pikkelysömörös T sejtekben
6. MIT 39. Vándorgyűlése, 2010.11.03-05. poszter: Kovács-Sólyom Ferenc, Prihoda Judit, Kemény Lajos, Gyulai Rolland. Az interleukin-1 receptor család expressziójának összehasonlítása normál és pikkelysömörös T sejtekben
7. Tudományos Diákköri Konferencia, Szeged, 2009. előadás: Képiró László. Az ARTS-1 gén polimorfizmusainak vizsgálata pikkelysömörben
8. Tudományos Diákköri Konferencia, Marosvásárhely, 2009. előadás: Képiró László. Az ARTS-1 gén polimorfizmusainak vizsgálata pikkelysömörben
9. Tudományos Diákköri Pályamunka, 2009. Szeged: Képiró László. Az ARTS-1 gén polimorfizmusainak vizsgálata pikkelysömörben
10. Tudományos Diákköri Konferencia, Szeged, 2010. előadás: Képiró László. Az ARTS-1 gén polimorfizmusainak vizsgálata arthritis psoriaticában
11. Szakdolgozat, SZTE-ÁOK Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, 2010: Képiró László. DNS polimorfizmusok vizsgálata bőrbetegségekben: Az ARTS-1 gén polimorfizmusainak vizsgálata pikkelysömörben és arthritis psoriaticában
12. Tudományos Diákköri Pályamunka, 2010. Szeged: Képiró László. Az ARTS-1 gén polimorfizmusainak vizsgálata arthritis psoriaticában
13. Magyar Dermatológiai Társulat 85. Nagygyűlése, 2012. december 6-8. Előadás: Dalmády Szandra. Anti-MCV antitestek kimutatása és klinikai összefüggések keresése arthritis psoriaticában