

Eredményeink szerint a TNF-kezelés szelektíven, dóziszfüggően és reverzibilisen csökkenti a CD3-zéta lánc expressziót humán T-lymphocytákon, az SRC like adaptor protein (SLAP) kifejeződésének szabályozásán keresztül. A SLAP mRNS szint nem változik TNF hatására, feltehetően mikro-RNS szabályozás alatt áll, eredményeink alapján felmerül a mir155; mir146 és a mir181a szerepe a SLAP kifejeződésének szabályozásában. Rheumatoid arthritises (RA) betegek T-lymphocytáinak SLAP expressziója fokozott ( $p < 0,05$ ), ugyanakkor a CD3-zéta lánc szintje alacsonyabb az egészséges kontrollokénál. A SLAP-nak szerepe van a T-sejt aktiváció szabályozásában (*Érsek B et al, J Immunol, 2012*).

Vizsgáltuk proinflammatorikus és antiinflammatorikus citokinek hatását is a CD3-zeta lánc kifejeződésére. Eredményeink szerint a TNF-hez hasonlóan az IL-1; IL-4; IL-6 IL-8 és az IL-13 is csökkenti a CD3-zeta lánc expressziót.

Vizsgáljuk a human TH17-lymphocyták vitro differenciálódását perifériás mononukleáris sejtekből és izolált CD4+ T-lymphocytákból. Egészséges donorok perifériás véréből ficoll gradiens centrifugálással mononukleáris sejteket (PBMC) izoláltunk, majd mágneses szeparációval (negatív szelekció) CD4+ T-sejteket nyertünk. A sejteket anti-CD3 (1  $\mu\text{g/ml}$ ) és anti-CD28 (1  $\mu\text{g/ml}$ ) antitestekkel aktiváltuk, TGF $\beta$  (2,5 ng/ml), IL-6 (25 ng/ml), IL-1 (10 ng/ml) citokinekkal, valamint anti-IL-4 (10  $\mu\text{g/ml}$ ) és anti-IFN $\gamma$  (10  $\mu\text{g/ml}$ ) blokkoló antitestekkel kezeltük 5-10 napig. A sejtek ROR $\gamma$ t gén és fehérjeexpresszióját real-time PCR és western blot, IL-17 és IL-22 termelését ELISPOT és ELISA módszerekkel mértük. A sejtek viabilitását tripán kék festődés és impedancia változás mérésén alapuló módszer segítségével mértük. Eredményeink szerint a citokinkezelés hatására a differenciálódás 5. napján nőtt a ROR $\gamma$ t expresszió mind gén, mind fehérje szinten a kiindulási, az 5 napos kezeletlen és aktivált sejtekhez viszonyítva, amely blokkoló antitestek hatására fokozódott mind 5, mind 10 nap elteltével. Az anti-CD3 és anti-CD28 antitestekkel történő sejtaktiváció a citokinek és blokkoló antitestek hiányában is fokozta a sejtek IL-17 és IL-22 termelését, azonban a ROR $\gamma$ t expressziót nem befolyásolta. A blokkoló antitestek hatására az IL-22 termelés csökkent. A sejtek proliferációja a ROR $\gamma$ t expresszió növekedésével fordított arányban csökkent. A blokkoló antitestek szelektíven a Th17 sejtek proliferációját fokozzák, elősegítik a citokinek indukálta Th17 differenciálódást. A nitrogén monoxid (NO) kezelés nem befolyásolta érdemben a CD4+ T-lymphocyták Th17 irányú differenciálódását.

RA-s betegek CD4<sup>+</sup> sejtjeinek IL-17 termelése nem különbözik szignifikánsan az egészséges kontrolloktól, továbbá CD3/CD28 aktiváció, TGF $\beta$  (2,5ng/ml), IL-6 (25ng/ml), IL-1 (10ng/ml) citokinkezelést követően sem találtunk különbséget a betegek és kontrollok CD4<sup>+</sup> sejtjeinek IL-17 termelése között. Ugyanakkor aktiváció, citokinkezelés és blokkoló antitest kezelés [anti-IL-4 (10 $\mu$ g/ml) és anti-IFN $\gamma$  (10 $\mu$ g/ml)] hatására RA-s betegek Th17 irányba differenciálódó CD4<sup>+</sup> sejtjei több IL-17-et termelnek mint az egészséges kontrollok sejtjei, ELISA módszerrel mérve ( $p < 0,05$ ), míg a ROR $\gamma$ t expresszió mértékében, és az IL-22 termelésben nem találtunk szignifikáns különbséget.

Vizsgáljuk a steril körülmények között dohányfüsttel kezelt médium immunmoduláns hatását. A dohányfüst gátolja a CD3/CD28 stimulációra mérhető IL-17 termelést ( $p < 0,05$ ), de nem befolyásolja a CD4<sup>+</sup> T-lymphocyták Th-17 irányú differenciálódását. A dohányfüst dóziszfüggően fokozza a tumor necrosis factor receptor-1 (TNF-R1) és a TNF-R2 kifejeződését. AHR receptor agonisták benzo[a]pyrene (B[a]P) és 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (amelyek a dohányfüst komponensei) gátolták a CD3/CD28 kezelés által indukált IL-17 termelést. Hasonlóképpen az AHR receptor antagonistá CH-223191 (2-methyl-2H-pyrazole-3-carboxylic sav) is gátolja a CD3/CD28 által indukált IL-17 termelést.

Az egér iTreg-sejtek *in vitro* differenciáltatását is tanulmányoztuk. Mágneses szeparációval elsőként a CD4<sup>+</sup>, majd ezekből a CD25<sup>-</sup> sejtek kerültek kiválasztásra a lépéből kinyert vörösvérsejt-mentesített sejtuszuspenzióból. Ezen sejtek egy jelentős része anti-CD3 és anti-CD28 antitestekkel aktiválva TGF-beta és IL-2 jelenlétében 4-5 nap alatt CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> fenotípust mutatott. A szuppresszív funkció vizsgálatát CFSE-assay segítségével áramlási citometriával történt. Különböző proinflammatorikus citokinek (IL-1 beta, IL-6, IL-17, IL-18) illetve NO-donor (NOC-18) vagy NOS-gátlószer (L-NMMA) hozzáadásával vizsgáltuk ezek módosító hatását az iTreg differenciálódásra és funkcióra. Nem találtunk különbséget sem a szuppressziós kapacitás tekintetében, sem a differenciálódást illetően a különböző citokinek és az NO hatására. A pozitívan szelektált CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> sejtek és CFSE-festett lépsejtek együtt tenyésztésével, azokat különböző citokinek hozzáadásával anti-CD3-mal aktiválva az nTreg-ek funkciójára gyakorolt hatást vizsgáltuk. A proinflammatorikus citokinek csökkentették a Treg szuppressziós képességét (legnagyobb mértékben az IL-18), amely NO-val gátolható volt.

Vizsgáljuk miktopartikulák és exoszomák human osteoclast differenciálódásra kifejtett hatását. Eredményeink szerint frissen szeparált mikropartikulák fokozzák ( $p < 0,05$ ), exosoma kezelés jelentősen gátolja az osteoclast differenciálódást ( $p < 0,001$ ), ugyanakkor nem befolyásolja a sejtek viabilitását. Exosoma kezelés mellett a differenciálódó osteoclastok mérete és alakja is megváltozik.

Vizsgáljuk, hogy RA-s betegek széruma hogyan reagál citrullint és arginint tartalmazó filaggrin, vimentin és kollagén peptidekkel. A citrullinált peptidek felismerik a rutin diagnosztikában alkalmazott anti-citrullinált protein antitest (anti-CCP) negatív, anti-mutált citrullin vimentin (anti-MCV) és rheumatoid faktor (RF) negatív szérumok 30 százalékát, így a jövőben diagnosztikus szerepük is lehet. Az RA-s betegek autoantitestjei a kereskedelmi forgalomban elérhető ACPA ELISA-kitekhez hasonlóan reagálnak citrullinált filaggrin, vimentin és kollagén peptidekkel (*Szarka E et al, Immunology, 2014*).

Citrullin tartalmazó filaggrin peptidek N és C terminális biotinizációjának hatását vizsgáljuk az antitest kötődésre. Az N- vagy C-terminális biotinizáció nem befolyásolja érdemben az ACPA antitest kötődését 19 aminosavból álló citrullinált peptid esetében, míg az 5 aminosavból álló peptid N-terminális biotinizációja gátolta az antitest kötődését (**Babos F et al., Bioconjug Chem 2013**).

A galectin 8 rs2737713 TT genotípus az 50 évesnél idősebbek körében RA-ra hajlamosít, míg a fiatalabb populációban védő szerepe van (antagonisztikus pleiotropia). RA-val nem asszociál az rs4950928 és rs10399931 HCgp-39 polimorfizmus. (*Pál Z et al. Biochimica et Biophysica Acta, 2012, Srivastava SK et al, Rheumatol Int, 2010*).

Tüdőrákos betegek mintáinak vizsgálata alapján a citrullinált proteinek és a PAD4 enzim jelenléte nem feltétlenül vezet citrullinált proteinek elleni antitestek termelődéséhez és autoimmun betegség kialakulásához. A citrullináció mértéke nem tért el a dohányos és a nem dohányos betegek mintáiban. Tumoros szövetek PAD4- és a CK7-festődése igen jól korrelált (*Baka Z et al, Int Immunol, 2011*).

Citrullinált aggregán immundomináns epitop peptiddel történt immunizációt majd a citrullinált peptiddel történő *in vitro* restimulációt követően a nyirokcsomósejtek IFN- $\gamma$ -termelése magasabb a nem citrullinált peptiddel történő restimulációhoz képest.

**(Misják P et al, Immunology letters, 2013).**

A HCgp-39, a HexA és a HexB is expresszálódik a synovialis fibroblastokban. TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-17 és NO-donor NOC-18 gátolja vagy érdemben nem befolyásolja RA-s és arthrosisos betegek térdízületéből izolált fibroblastok Hc-gp 39-, HexA-, HexB- és GusB-expresszióját. A nem hőérzékeny HexD enzim a felelős a synovialis mintákban mérhető galaktózaminidáz-aktivitás jelentős részéért. RA-s és arthrosisos betegek synovialis fibroblast eredetű mikrovesiculáiban GusB- és HexD-enzimaktivitás mérhető **(Pásztói M et al, Arthritis Res Ther. 2009, Pásztói M et al, Immunology letters, 2013).**

Szignifikánsan több T limfocita (CD3; pozitív p=0,001), B limfocita (CD 19 pozitív; p=0,01] és monocita (CD14 pozitív; p=0,006) eredetű mikropartikulumot találtunk a polymyositisos betegek vérplazmájában az egészséges kontrollokkal összehasonlítva. A mikropartikulák ultracentrifugálással történő izolálását követően a reszuszpendált oldatban csak nyomokban mérhető CK aktivitás. Az elektronmikroszkópiával amorf struktúrájú mikropartikulumokat találtunk polymyositisben **(Baka Z et al, Immunology letters 2010).**

Triton X-100-kezelést követően az annexinpozitív és a CD41-pozitív események száma (MV-k) jelentősen csökken, míg az IgG- és IgM-jelöléssel ábrázolódó struktúrák (immunkomplexek) mennyisége nem változott. Az RA-s betegek synovialis mintáiban nagyobb mennyiségben található CD8<sup>+</sup> MV, mint az arthrosisos betegek esetében, ugyanakkor a CD4<sup>+</sup> MV-k számában nem találtunk különbséget a két betegcsoport között **(György B et al Blood, 2011; György B et al, Cell Mol Life Sci., 2011; György B et al, PLoS One, 2013; Buzas EI et al, Nat Rev Rheumatol., 2014).**

Az anti C1-inhibitor szérumszintje magasabb volt az SLE-s betegek mintáiban, mint az egészséges kontrollokéban. Az SLE-s betegek 17,3 százalékában mértünk a kontrollok átlag + kétszeres szórás értékét meghaladó C1-inhibitor-szintet **(Mészáros T et al, Lupus, 2010).**