

PHD ÉRTEKEZÉS

TÉZISEK

**HAJLAMOSÍTÓ GÉNEK VIZSGÁLATA MAGYAR MORBUS
CROHNOS ÉS COLITIS ULCEROSÁS
BETEGPOPULÁCIÓBAN**

Magyari Lili

**Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézet**

Témavezető: Dr. Melegh Béla

Pécs

2007

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés

1.1. Gyulladásos bélbetegségek jellemzői

1.1.1. Crohn betegség

1.1.2. Colitis ulcerosa

1.1.3. A két betegség összehasonlítása

2. Vizsgálati célkitűzések

2.1. Genetikai variánsok keresése

2.1.1. CARD15 gén R702W, G908R, 1007finsC

2.1.2. SLC22A4 gén C1672T, SLC22A5 gén G-207C

2.1.3. CTLA4 gén A+49G

2.1.4. IL23R gén rs10889677 C/A, rs2201841 T/C, rs1884444 G/T

3. Betegek és módszerek

3.1. Vizsgált betegpopuláció

3.2. Fenotípus jellemzés

3.3. Genotípus elemzés

3.3.1. CARD15 gén R702W, G908R, 1007finsC

3.3.2. SLC22A4 gén C1672T, SLC22A5 gén G-207C

3.3.3. CTLA4 gén A+49G

3.3.4. IL23R gén rs10889677 C/A, rs2201841 T/C, rs1884444 G/T

3.4. Statisztikai analízis

4. Eredmények

4.1. CARD15 gén R702W, G908R, 1007finsC

4.2. SLC22A4 gén C1672T, SLC22A5 gén G-207C

4.3. CTLA4 gén A+49G

4.4. IL23R gén rs10889677 C/A, rs2201841 T/C, rs1884444 G/T

5. Eredmények megbeszélése és következtetések

6. Eredmények összefoglalása

7. Értekezés alapjául szolgáló közlemények

8. Csatlakozó közlemények

9. Idézhető absztraktok

10. Irodalomjegyzék

11. Köszönetnyilvánítás

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

IBD: Gyulladásos bélbetegségek összefoglaló neve (Inflammatory bowel disease)

CD: Crohn betegség (Crohn's disease)

UC: Colitis ulcerosa (ulcerative colitis)

SNP: Egy pontos nukleotid polimorfizmus (single nucleotide polymorphism)

PCR: Polimeráz láncreakció (polymerase chain reaction)

RFLP: Restrikciós fragment hosszúság polimorfizmus (restriction fragment length polymorphism)

CARD15: Caspase recruitment domain-containing protein 15

SLC22A4: Solute carrier family 22, member 4

SLC22A5: Solute carrier family 22, member 5

CTLA4: Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene

IL23R: Interleukin 23 receptor

UTR: Untranslated region

EDTA: Etiléndiamin-tetraecetsav

1. BEVEZETÉS

1.1. Gyulladásos bélbetegségek jellemzői

A gyulladásos bélbetegségek, angolszász nomenklatúra szerint IBD (Inflammatory bowel disease) közé soroljuk a Crohn-betegséget (Crohn's disease, CD) és a colitis ulcerosát (ulcerative colitis, UC)^{8,21,36,51,52,57,73}. Hazánkban a betegek száma 20-25 ezerre tehető, a tünetek 20-40 éves kor között jelentkeznek¹⁰. Mindkét nemben előfordul, nőkben gyakoribb¹⁰. A két betegség sok szempontból hasonlít egymásra, de számos eltérés is jellemző¹⁰. Kiváltó okok között szerepelnek külső tényezők -fertőzések, gyógyszerek, mérgek, mérgező anyagok, dohányzás, drogok, alkohol, bélbaktériumok, illetve belső egyéni eltérések -genetika, immunrendszer, lelki folyamatok^{16,22,26,36,43,44,70,73}. A két betegség pontos oka mindmáig ismeretlen, mégis nagy jelentőséget tulajdonítanak a genetikai háttérnek, ugyanis fennáll bizonyos genetikai hajlam, mely megnyilvánulhat a bélnyálkahártya csökkent ellenálló képességében és az immunrendszer működési zavarában⁷⁴. Mindez környezeti tényezőkkel társulva gyulladásos folyamatot indít be⁷⁴. A normál bélflórának is fontos szerepe lehet a patogenezisben³⁷. A normál bélflóra és termékei ugyanis folyamatos antigéningert jelentenek a nyálkahártya immunrendszere számára, amely a genetikailag fogékony egyéneknél agresszív válaszreakciót indukálhat³⁷. A mikrobiális flórát kb. 300-400 különböző baktériumtörzs alkotja³⁷. Ezek egyensúlyban vannak a nyálkahártya immunrendszerével³⁷. Ez az arány krónikus bélgyulladás esetén felborul, megnövekszik a gyulladásképző baktériumok pl. *Bacteroides* törzsek koncentrációja³⁷. Különböző kívülről a szervezetbe bekerült baktériumoknak és vírusoknak is szerepe lehet az IBD kialakulásában (*Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Yersinia enterocolitica*, *cytomegalovírus*, *rotavírus*)³⁷. Gyakran szövődmények lépnek fel, mint

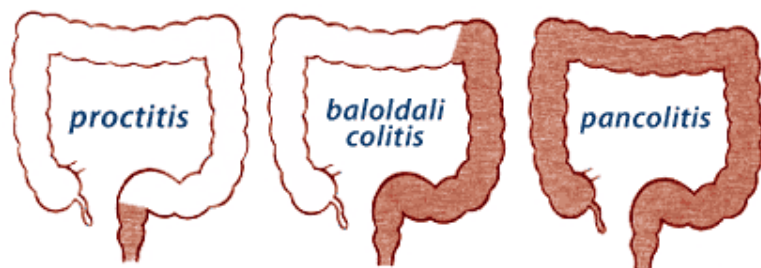
szemtünetek, szájgyulladás, bőrtünetek, epeúti gyulladás, epekő, vesekő, hasnyálmirigy gyulladás, ízületi problémák⁹.

1.1.1. Crohn betegség

Ismeretlen eredetű, idült gyulladásos gasztrointestinális kórkép, mely nevét Burill Crohn amerikai belgyógyásztól kapta¹⁰. Leggyakrabban a vékony- és a vastagbél, ritkábban a tápcsatorna felsőbb szakaszait (nyelőcső, gyomor) érintheti^{10,27,44}. A betegség korlátozódhat csak a vékonybélre (ileitis), érintett lehet a vékonybél és a vastagbél egy része (ileocolitis), előfordul, hogy csupán a vastagbél érinti (granulomatosis colitis)²⁷. Az esetek nagy részében a terminális vékonybélre lokalizálódik a gyulladás (terminális ileitis)¹⁰. Esetenként a vékonybél több szakasza (regionális enteritis), illetve a vastagbél több szakasza (Crohn-colitis) vesz részt a betegség kialakulásában¹⁰. Tünetei: hasi fájdalom, haspuffadás, hasmenés, véres széklet, sipolyképződés, fisztulák, láz, étvágytalanság, hányás, fogyás, növekedésbeli elmaradás, rossz közérzet, pubertás késése^{10,27,44}.

1.1.2. Colitis ulcerosa

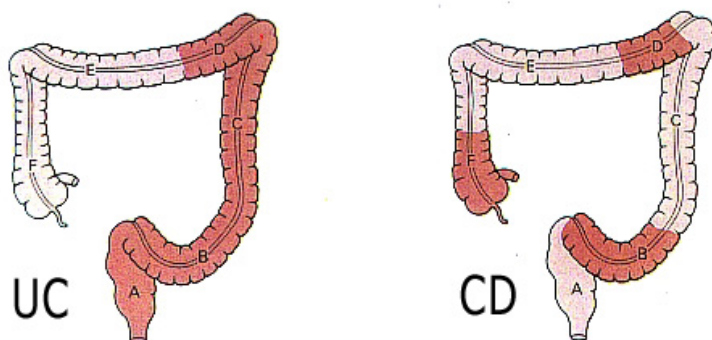
A fekélyes vastagbélgyulladás a vastagbél ismeretlen eredetű, krónikus, gyulladásos betegsége, mely kizárólag a vastagbélre lokalizálódik^{10,27,43}. A gyulladás a bélfal rétegei közül csak a nyálkahártyát érinti^{10,27}. A gyulladás a végbél felől indul, és fokozatosan terjed proximális irányba^{10,27}. A betegség korlátozódhat a végbélre (proctitis) vagy a teljes vastagbélre (pancolitis) (1. ábra)^{10,27}. A szigmabél és a végbél együttes érintettsége (proctosigmoiditis), illetve a leszálló vastagbél, a szigmabél és a végbél egyidejű gyulladása (bal oldali colitis) is jellemző (1. ábra)^{10,27}. Tünetei: hasi fájdalom, görcsök, véres hasmenés, székrekedés, láz, víz- és sóvesztés, vérszegénység, fehérjehiány, vashiány^{10,27,43}.



1. ábra: Colitis ulcerosa típusai.
(www.crohn-colitis.hu)

1.1.3. A két betegség összehasonlítása

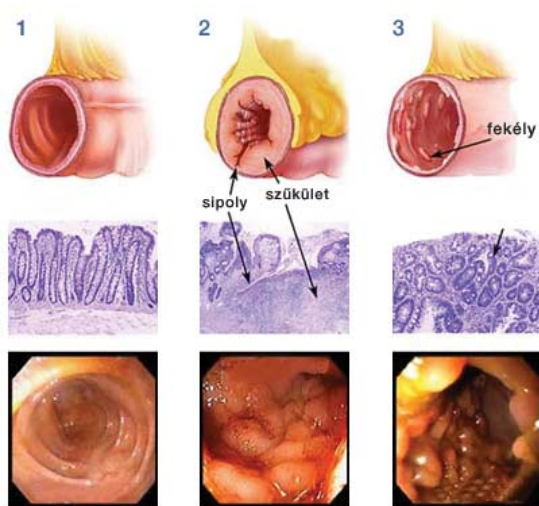
Lényeges különbség, hogy a betegség a tápcsatorna mely szakaszán jelentkezik (2. ábra)¹⁰. Colitis ulcerosában kizárólag a vastagbél érintett, míg a Crohn-betegség a vékonybélre és a vastagbélre is kiterjedhet, gyakran érintett lehet a tápcsatorna felsőbb szakasza is, mint nyelőcső, gyomor (2. ábra)^{10,27,44}. A colitis ulcerosa mivel csak a vastagbélben fordul elő, így ha szükségessé válik a vastagbél eltávolítása, végleges gyógyulás következik be¹⁰. Ezzel szemben a Crohn betegség az emésztőrendszer egészét érintheti a szájtól a végbélig, ezért a gyulladt szakasz eltávolítása nem hoz gyógyulást, a betegség bárhol visszatérhet^{10,27,44}.



2. ábra: A két betegség által gyulladásba hozott bélszakaszok.
(www.aloeride.eu/IBD.html)

A másik fontos különbség a bélfal érintettségén alapul (3. és 4. ábra)¹⁰. Colitis ulcerosában a gyulladós jelenségek csak a bél nyálkahártyájára és a submucosára korlátozódnak, míg Crohn-betegség esetén a bélfal minden rétege érintett a mucosától a serosáig (3. és 4. ábra)^{10,27,43,44}.

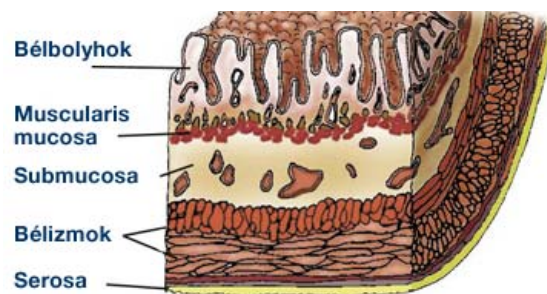
Míg a colitis ulcerosa összefüggő gyulladást hoz létre, a Crohn betegség szegmentális, gyulladt és ép bélszakaszok váltakoznak egymással¹⁰.



3. ábra: Az egészséges (1), illetve a Crohn betegség (2) és a colitis ulcerosa (3) által érintett bél keresztmetszeti rajza és szövettani képe. Alsó sorban az endoszkópos képek láthatóak. (www.crohn-colitis.hu)

4. ábra: A bélfal rétegei.

(www.crohn-colitis.hu)



Crohn-betegség esetén tehát a gyulladás mélyebb rétegekbe terjed, olyannyira, hogy elérve a bél külső felszínét összetapadhat a szomszédos vékony- vagy vastagbélszakaszokkal, hasi szervekkel (hólyag, méh, hüvely)¹⁰. Ilyenkor az összetapadt szervek között rendellenes járat, ún. belső sipoly alakul ki¹⁰. A baktériumokat tartalmazó béltartalom a sipolyon átjuthat a steril szervekbe, vagy kikerülhet a szabad hasüregbe és további betegségeket okozhat (pl. tályog)¹⁰. Jellemző az ún. külső sipoly is, mely a végbél körüli bőrfelületen alakul ki¹⁰. Colitis ulcerosában ezek a szövődmények nem fordulnak elő¹⁰.

Amikor a bél gyulladt, beteg, a bélfal nem képes megfelelően működni, felszívni a tápanyagokat¹⁰. Ez az egyik oka, hogy a gyulladással járó bélbetegségek gyakran alultápláltak,

étvágytalanok¹⁰. A Crohn-betegség jellemző tünete a fogyás^{27,44}. Ha a betegség a vékonybelet érinti, felszívódási zavar, tápanyaghiány tünetei alakulhatnak ki^{10,44}. Ezzel ellentétben colitis ulcerosára, mivel a vastagbelet érinti sem fogyás, sem felszívódási zavar nem jellemző¹⁰.

2. VIZSGÁLATI CÉLKITŰZÉSEK

2.1. Genetikai variánsok keresése

2.1.1. *CARD15* gén *R702W*, *G908R*, *1007finsC*

Elsőként azonosították CD génként, mely a monocytákban a murmaril-dipeptidet (MDP) és a bakteriális lipopoliszacharidokat érzékelő citoszolreceptorban lévő NOD2 fehérjét kódolja^{40,42,57,58}. A 16-os kromoszóma pericentromerikus régiójában helyezkedik el⁵⁶. Kaukázusi populációban elvégzett vizsgálatok kimutatták, hogy ennek a génnek 3 kódoló variánsa független rizikó faktort jelent CD kialakulására^{32,64}, ezek a 4-exonban elhelyezkedő Arg702Trp, és a 8-as exonban található Gly908Arg misszensz mutációk, illetve a 11-es exonban lévő 1007finsC inszerció⁵. Ázsiai populáción elvégzett egyes vizsgálatok viszont arra irányították a figyelmet, hogy ennek a három variánsnak a hordozása nem minden népcsoport esetén jelent kockázati tényezőt Crohn betegségre^{24,31}. A célunk az volt, hogy ezt az összefüggést megvizsgáljuk magyar felnőtt Crohnos betegmintáinkon a jobb karakterizálás érdekében³.

Vizsgálatokat végeztek amerikai⁶², német⁵⁹, izraeli zsidó⁷¹, és olasz gyerek Crohnos mintákon¹⁴, az eredmények megerősítették a *CARD15* gén 3 variánsának hajlamosító voltát Crohn betegségre. Kíváncsiak voltunk, hogy magyar gyerek Crohnos populációban hajlamosító tényezőnek bizonyul-e e három variáns⁴.

2.1.2. *SLC22A4* gén *C1672T*, *SLC22A5* gén *G-207C*

A karnitin és más organikus kationok kétirányú membrántranszportjáért felelős OCTN kation transzporter két variánsa, az *SLC22A4* gén 9-es exonjában elhelyezkedő C1672T szubsztitúció és az *SLC22A5* gén promóter régiójában található G-207C transzverzió együttesen hajlamosítanak Crohn betegség kialakulására, meghatározva az un. TC haplotípust^{57,58}. Ezt Peltekova írta le⁵⁰, majd számos kutató megerősítette, különböző

populációk vizsgálata esetén - német⁶⁵, görög¹⁶, kanadai⁴⁶, olasz⁴⁹, skót^{48,54}, spanyol³⁹, svéd⁶³. Ez a haplotípus azonban nem jelent minden esetben szuszceptibilitási ágenst egyes népcsoportok esetén^{66,68}. Vermeire és munkatársai flamandokat vizsgálva azt tapasztalták, hogy az OCTN kation transzporter nem játszik szerepet a gyulladós bélbetegségek kialakításában⁶⁸. Kevés publikációban vizsgálták a TC haplotípus UC-re való hajlamosítottságát⁴⁹. Palmieri és munkatársai azt találták, hogy a haplotípus frekvencia emelkedett mind CD, mind UC esetén, és a TC haplotípus a gyulladós bélbetegségek számos klinikai tünetét befolyásolja⁴⁹. Waller és munkatársai szerint az OCTN variánsok mindkét betegséggel kapcsolatban vannak⁶⁹. Tosa és munkatársai japán Crohns és colitis ulcerosás betegeket vizsgálva azt tapasztalták, hogy a TC haplotípus nem hajlamosít egyik betegség kialakulására sem⁶⁶. Számos cikket tanulmányozva elmondható, hogy különböző populációktól függ, hogy a TC haplotípus hajlamosító tényező-e az adott népcsoportokban előforduló gyulladós bélbetegségekre. Felmerül a kérdés, hogy magyar felnőtt IBD-s és gyerek Crohns populációban hajlamosít-e e két eltérés a két betegség valamelyikére, vizsgálataink ennek kiderítésére irányultak^{3,4,34}.

2.1.3. *CTLA4* gén A+49G

A T sejt receptorként funkcionáló CTLA4 gén 1-es exonjában lévő A+49G eltérés Thr Ala szubsztitúciót okoz a fehérjeszekvencia 17-es pozíciójában, melyet Nistico felfedezett fel⁴⁷. Ez összefüggésbe hozható IBD-vel³³, celiáciával^{38,45}, I-es típusú diabétesszel^{1,75}, Graves-betegséggel^{19,67}, rheumatoid arthritisszel^{28-30,61}, sclerosis multiplexszel⁶⁰. Machida és mts. japán populációban hajlamosító tényezőként determinálták ezt a variánst CD-re és UC-re³³, ugyanakkor Xia és mts. nem találtak összefüggést IBD-vel⁷². Vizsgálataink arra irányultak, hogy kiderítsük, magyar populációban hajlamosít-e ez az eltérés IBD-re³⁵.

2.1.4. *IL23R* gén rs10889677 C/A, rs2201841 T/C, rs1884444 G/T

Az érdeklődés középpontjába került az IL-23 citokin és annak receptora. Az IL-23 fontos szerepet játszik a veleszületett és T-sejt mediálta bélel kapcsolatos gyulladási folyamatokban^{15,20,25,41}. Duerr és mts. az IL23R-t mint IBD gént azonosították, 12 SNP-t vizsgálva a gén régiójában, melyek közül egyesek hajlamosítanak IBD-re (rs10889677, rs2201841, rs1004819, rs11209032, rs1495965), mások védenek ellene (rs11209026, rs10489629, rs11465804, rs7517847, rs1343151), míg egyesek közömbösnek bizonyultak (rs7530511, rs1884444)¹².

Mi 3 eltérést emeltünk ki, az egyik a gén 3'UTR régiójában elhelyezkedő rs10889677 C/A és az rs2201841 T/C, melyek hajlamosítanak a betegség kialakulására, a másik a rs1884444 G/T, mely nem mutat összefüggést IBD-vel az általuk vizsgált zsidó és nem zsidó populációkban¹³.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Vizsgált betegpopuláció

A minták gyűjtése 2003 óta zajlik az ország különböző területeiről (Békéscsaba, Budapest, Pécs, Szombathely, Zalaegerszeg). Biobankunk az országos biobank része (www.biobank.hu), mely részére eddig 201 felnőtt Crohnos, 241 felnőtt colitis ulcerosás, valamint 19 gyerek Crohnos beteg vérmintáját gyűjtöttük össze, ez a szám azóta is folyamatosan növekszik. Vizsgálatainkhoz 235 felnőtt kontroll és 49 gyerek kontroll személytől vettünk vért, ők korban, nemből különböző, klinikailag egészséges egyének.

3.2. Fenotípus jellemzés

A genetikai vizsgálatokat részletes klinikai vizsgálat előzte meg, mely magába foglalta a részletes anamnézist, a fizikális és laboratóriumi vizsgálatot, endoszkópos és hisztológiai eljárás során nyert eredményeket. Minden egyes beteg a kórelőzményre vonatkozólag kérdőívet töltött ki, mely személyére, betegségeire, jelenlegi panaszaira, gyógyszereire vonatkozó adatokat tartalmazta. A klinikai adatok az egyes betegeknél a következők voltak: életkor, nem, testtömeg, süllyedés, C-reaktív-protein, vas, albumin, fehérvérsejtszám, hematokrit, hemoglobin, serum elektroforézis. Klinikai gyakorlatunkban a diagnózist mind a colitis ulcerosa, mind a Crohn betegség esetén a típusos klinikai kép alapján végzett endoszkópos vizsgálat és szövettan alapján állítottuk fel. A diagnózis felállítása után célunk az volt, hogy a genomban IBD-vel kapcsolatba hozható eltéréseket vizsgáljunk, és kimutassuk, hogy milyen összefüggés van a kialakult klinikai kép és az adott genetikai variánsok között. A diagnózis felállítása Crohn betegség és colitis ulcerosa esetén a következő jellemzők alapján történt:

A Crohn betegség jellemző klinikai tünetei közé tartozik a nyákos hasmenés, vastagbél érintettség esetén manifeszt vérzéssel, a dominálón az ileocaecalis régióban jelentkező hasi

fájdalom, láz, gyors fogyás, étvágytalanság, fáradtság. Az esetek mintegy 80%-ban perianalis laesiók (fistulanyílások, abscessus) alakulnak ki. A laboratóriumi leletek közül aktív szakaszban jellemzőek a kóros gyulladási paraméterek (fehérvérsejtszám emelkedés, fokozott süllyedés, emelkedett CRP szint), az anaemia alacsony serum vas értékkel, vaskötő kapacitással, valamint a malabszorpció tüneteként jelentkező steatorrhea, a serum A vitamin és karotin szintjének csökkenése, alacsony serum kálium szint. Az endoszkópos diagnózis jellemzői: szegmentális nyálkahártya elváltozások, utcakövezetre emlékeztető nyálkahártya kép, mely a hosszanti és kereszt irányú ulcerációk és a közöttük kialakuló fissurák következménye. Köztük ödémás nyálkahártya szigetek. A végbél distalis része makroszkóposan gyakran ép. Gyakoriak a szűkületek, stricturák. A szövettanilag típusos sarcoid laesio epitheloid sejtgranulációkkal az esetek kevesebb, mint 50%-ban mutatható ki. A granulomatosis szöveti reakción kívül kehelysejtek, transmuralis dyscontinuus gyulladási infiltráció, fekélyek, fissurák, intramuralis abscessusok jelentkezhetnek.

A colitis ulcerosa mivel kizárólag csak a vastagbélre korlátozódik, és a gyulladási reakció mélységében csak a nyálkahártyára lokalizálódik, ezért a diagnózist a típusos tünetek (gyakori hasmenéses-véres székletürítés, éjszakai hasmenés, anaemia, hypovolaemia okozta gyengeség, fáradékonyság, hőemelkedés, láz) ismeretében a betegség endoszkópos és szövettani jellegzetességei alapján mondhatjuk ki. A laboratóriumi vizsgálatok közül a gyulladási reakciókkal összefüggő laborvizsgálatok (süllyedés, CRP, fehérvérsejtszám), vérszegénység okozta vashiányos anaemia következtében kialakuló kóros hemoglobin, hematokrit, serum vas értékek lehetnek kórjelzők. A gyulladás endoszkópos jelei a következők: aktív colitis ulcerosában a mucosa érrajzolata eltűnik, a nyálkahártya ödémája, granuláltsága alakul ki, a nyálkahártya sérülékeny, a műszer érintésére vagy spontán vérzések alakulnak ki, mucopurulens exsudatum van jelen, többszörös fekélyképződés alakulhat ki. A szövettani vizsgálat során a legtipikusabb, de nem specifikus szövettani eltérés a cryptaabscessus

jelenléte. A cryptadystoriso, mononuclearis és neutrophil sejtes infiltratio, felületes eróziók, fekélyek a diagnózist valószínűsítő eltérések. Colitis ulcerosában a kolonoszkópos vizsgálat nemcsak az első diagnózis felállításában, hanem a gyulladásos folyamat kiterjedésének megítélésben, valamint a dysplasia szűrésben is fontos szerepet játszik.

3.3. Genotípus elemzés

A DNS-izolálást EDTA-val alvadásgátolt vérmintákból végeztük kisózással. A DNS-analízis kiindulópontja a polimeráz láncreakció (PCR) útján végzett amplifikáció, mely standard módon az adott szekvenciára specifikus, szintetikus oligonukleotid primerek, Taq polimeráz, dNTP, puffer és genomiális DNS-templát jelenlétében zajlott. A PCR termék analízisének gélelektroforézissel, etidium bromidos festéssel és UV-megvilágítással történt. A különböző génekben (CARD15, SLC22A4, SLC22A5, CTLA4, IL23R) lévő eltérések esetén a mutációk/polimorfizmusok meghatározására RFLP módszert vagy direkt szekvenálást alkalmaztunk. Az analízisekre etikai bizottsági engedély birtokában került sor. A vizsgálatok a pécsi orvostudományi és egészségtudományi központ regionális kutatás-etikai bizottsága 2000. július 10-én, 2003. február 4-én és az egészségügyi tudományos tanács tudományi és kutatás-etikai bizottsága 2004. március 9-én kiadott engedélyei alapján történtek.

3.3.1. CARD15 gén R702W, G908R, 1007finsC

A PCR amplifikáció után szekvenálást alkalmaztunk a következő primerpárokkal: R702W esetén a forward primer: 5'-GAGCCGCACAACCTTCAGATC-3', a reverse primer: 5'-ACTTGAGGTGCCCAACATTCAG-3'; G908R esetén a forward primer: 5'-GTTTCATGTCTAGAACACATATCAGG-3', a reverse primer: 5'-GTTCAAAGACCTTCAGAACTGG-3'; míg 1007finsC esetén a forward primer: 5'-CCTTGAAGCTCACCATTGTATC-3', a reverse primer: 5'-GATCCTCAAATTCTGCCATTC-3'^{3,4}. A reakciók 35 cikluson keresztül zajlottak, a következő kondíciók mellett: predenaturáció 95 °C-on 2 percig, denaturáció 95 °C-on 30

másodpercig, annealing 50°C-on 30 másodpercig^{3,4}. A DNS szekvenálás kivitelezése ABI 3100 automata szekvenálóval történt^{3,4}.

3.3.2. *SLC22A4* gén *C1672T*, *SLC22A5* gén *G-207C*

Genotipizálásra PCR/RFLP módszert³⁴ és direkt szekvenálást alkalmaztunk^{3,4}. Szekvenálás esetén a következő primereket terveztük: *SLC22A4 C1672T* esetén a forward primer 5'-AGAGAGTCCTCCTATCTGATTG-3', míg a reverse primer 5'-TCCTAGCTATTCTTCCATGC-3'; *SLC22A5 G-207C* esetén a forward primer 5'-AGTCCCGCTGCCTTCCTAAG-3', míg a reverse primer 5'-GTCACCTCGTCGTAGTCCCG-3'^{3,4}. PCR/RFLP módszernél az amplifikálásra a következő primereket terveztük: *SLC22A4 C1672T* esetén a forward primer 5'-TGACAGGAAAGAATGAAAAGCC-3', a reverse primer 5'-TTTCACTTTCTGCATCTGCTCT-3'. *SLC22A5 G-207C* esetén a forward primer 5'-GCCGCTCTGCCTGCCAGC-3', a reverse primer 5'-GGTCGCTATCAGGAACACGGAGGA-3'³⁴. A PCR reakcióhoz 35 cikluson keresztül az alábbi kondíciókat alkalmaztuk: predenaturáció 95°C-on 2 percig, denaturáció 95°C-on 30 másodpercig, primerkötődés 54°C-on *SLC22A4* esetén, 58°C-on *SLC22A5* esetén 30 másodpercig, DNS-szintézis 72°C-on 30 másodpercig, végső szintézis 72°C-on 5 percig³⁴. A felsokszorozott DNS szakaszok allélspecifikus restrikciós endonukleázzal lettek megemésztve, *SLC22A4 C1672T MnlI*-gyel, *SLC22A5 G-207C HpaII*-vel³⁴. *SLC22A4 C1672T* esetén *MnlI* a 358 bp nagyságú terméket 62 bp, 101 bp és 195 bp nagyságú fragmentekre vágta normál esetben (CC)³⁴. Ha a mutáció jelen volt, 163 bp és 195 bp hosszúságú fragmenteket tudunk elkülöníteni (TT)³⁴. *SLC22A5 G-207C*-nél a 386 bp hosszú PCR terméket *HpaII* enzimmel emésztettük³⁴. Normál esetben, GG genotípusnál 31 bp, 42 bp és 313 bp nagyságú bandek voltak láthatóak. Heterozigótáknál (GC genotípus) 31 bp, 42 bp, 313 bp és 355 bp, homozigóták esetén (CC genotípus) 31 bp és 355 bp hosszúságú termékek

keletkeztek³⁴. A restrikciós fragmenteket 3%-os agaróz gélen futtattuk és UV-val világítottuk³⁴.

3.3.3. *CTLA4* gén A+49G

A *CTLA4* A+49G eltérés detektálásához PCR/RFLP módszert alkalmaztunk³⁵. A PCR reakcióhoz a következő primereket használtuk: forward primer 5'-CTTGAGGTTGTCTTTTCGAG-3', reverse primer 5'-TACTAAATACCTGGCGCTCT-3'³⁵. A PCR reakció kivitelezése 35 cikluson keresztül az alábbi kondíciók alapján történt: kezdeti denaturáció 96°C-on 3 percig, denaturáció 96°C-on 45 másodpercig, primerkötődés 56°C-on 45 másodpercig, DNS-szintézis 72°C-on 45 másodpercig, majd befejező lépésként további DNS-szintézis 72°C-on 10 percig³⁵. Az amplifikátum emésztése *BseXI* allélspecifikus restrikciós endonukleázzal történt³⁵. Normál esetben (AA) *BseXI* az 573 bp PCR terméket 51 és 522 bp hosszú fragmentekre vágta³⁵. Heterozigótákban (AG) 51, 235, 287 és 522 bp hosszúságú bandek voltak detektálhatók³⁵. Homozigótákban (GG) az emésztés 51, 235 és 287 bp hosszú termékeket eredményezett³⁵. A restrikciós fragmentek futtatása 2.5%-os etidium bromidot tartalmazó agaróz gélben történt, mely UV fényvel megvilágítva látható³⁵.

3.3.4. *IL23R* gén rs10889677 C/A, rs2201841 T/C, rs1884444 G/T

A célszekvencia amplifikálására a következő primereket terveztük: rs10889677 SNP esetén 5'-ATCGTGAATGAGGAGTTGCC-3' forward primer 5'-TGTGCCTGTATGTGTGACCA-3' reverse primer; rs2201841 variáns esetén 5'-GGCAAAGGGAATTGAGAGG-3' forward primer, 5'-GGCCTATGATTATGCTTTTCCTG-3', reverse primer; rs1884444 variáns esetén 5'-CAGTCTTTTCCTGCTTCCAGACATGAATC-3' forward primer és 5'-AATAAAATCATACTCTTGCCAATGGCCC-3' reverse primer¹³. A PCR reakció 35 cikluson keresztül az alábbi kondíciók mellett zajlott le: kezdeti denaturáció 96°C-on 2 percig, denaturáció 95°C-on 30 másodpercig, primerkötődés 55°C-on rs2201841, 58°C-on rs1884444,

60°C-on rs10889677 esetén 45 másodpercig, DNS-szintézis 72°C-on 45 másodpercig, végső DNS-szintézis 72°C-on 5 percig¹³. A PCR termékek emésztése allélspecifikus restrikciós endonukleázzal történt, *MnII* alkalmazása rs10889677 SNP-nél, *HpyF3I* rs2201841 variánsnál, *PscI* 1884444 eltérésnél¹³. A szekvencia egy obligát hasító helyet is tartalmazott, hogy megbizonyosodjunk az enzim működőképességéről¹³. Rs10889677 C/A-nál *MnII* a 471 bp PCR terméket 61, 185 és 225 bp hosszú fragmentekre vágta normál esetben (CC)¹³. Heterozigótákban (CA) 61, 185, 225 és 286 bp nagyságú bandek voltak detektálhatók¹³. Homozigótáknál (AA) az emésztés 185 és 286 bp hosszú fragmenteket eredményezett¹³. Rs2201841 T/C esetén a *HpyF3I* enzim a 420 bp nagyságú terméket 163, 257 bp nagyságú fragmentekre vágta normál esetben (TT), míg homozigóták esetén (CC) 25, 163, 232 bp nagyságú termékek voltak detektálhatóak¹³. Heterozigótáknál (TC), 25, 163, 232, 257 bp hosszúságú termékek keletkeztek¹³. A közömbös eltérés (rs 1884444 G/T) emésztése *PscI* enzimmel történt, mely normál esetben (GG) 191, 318 bp nagyságú termékekre vágta az 509 bp hosszúságú PCR terméket¹³. Homozigóták esetén (TT) 28, 191, 290 bp hosszú fragmenteket lehetett látni a gélben, míg heterozigóták esetén (GT) 28, 191, 290, 318 nagyságú termékek keletkeztek¹³. A restrikciós fargmenteket 2.5%-os agaróz gélen futtatuk és UV-transzilluminációval tettük láthatóvá¹³.

3.4. Statisztikai analízis

SPSS 11.5 programcsalád segítségével, χ^2 -tesztet és regressziós analízist alkalmaztunk a betegség és a vizsgált genetikai variáns között fenálló összefüggés feltárására.

4. EREDMÉNYEK

4.1. CARD15 gén R702W, G908R, 1007finsC

Megvizsgáltunk 100 felnőtt Crohnos beteget (47 férfi, 53 nő, átlag életkor: 37.3 év) és 94 klinikailag egészséges kontrollt (47 férfi, 47 nő, átlag életkor: 45.6 év)³. CARD15 gén 1007finsC esetén a mutáns allélfrekvencia szignifikánsan emelkedett volt összehasonlítva a felnőtt Crohnos betegpopulációt a felnőtt kontrollokkal, mely megmutatkozik a heterozigóták és homozigóták szintjén is, a felnőtt Crohnos betegpopuláció 17%-a hordozza mindkettő vagy egyik mutáns allélt, szemben a kontrollokkal 4.3% (1. táblázat)³. CARD15 gén R702W és G908R mutációit vizsgálva felnőtt Crohnos populációban nem tapasztaltunk eltérést a felnőtt kontrollokhöz képest sem a homozigóták szintjén, sem az allélfrekvenciát tekintve (1. táblázat)³.

1. táblázat: CARD15 gén variánsainak allélfrekvencia eloszlása felnőtt Crohn betegekben és felnőtt kontrollokbán³.

		Felnőtt Crohn betegek n=100	Felnőtt kontrollok n=94
CARD15 genotípus			
R702W	CC	87 (87.0%)	87 (92.6%)
	CT	12 (12.0%)	5 (5.3%)
	TT	1 (1.0%)	2 (2.1%)
	T allél frekvencia	7.00%	4.79%
G908R	GG	94 (94.0%)	93 (98.9%)
	GC	6 (6.0%)	1 (1.16%)
	CC	-	-
	C allél frekvencia	3.00%	0.53%
1007finsC	--	83 (83.0%)	90 (95.7%)
	- insC	15 (15.0%)	4 (4.3%)
	insC insC	2 (2.0%)	-
	Cins allél frekvencia	9.50%*	2.13%

*P<0.05

Megvizsgáltunk 19 gyerek Crohnos beteget (14 fiú, 5 lány, átlag életkor: 13.4 év), és 49 gyerek kontroll mintát (28 fiú, 21 lány, átlag életkor: 14.4 év)⁴. G908R variáns során a CC homozigóta és C allél frekvencia szignifikánsan emelkedett volt a gyerek Crohnos populációban a gyerek kontrollokhoz képest (2. táblázat)⁴. Ugyanez mondható el az 1007finsC variáns esetén is, ahol szintén szignifikánsan emelkedett insCinsC homozigóta és Cins allél frekvenciát találtunk a gyerek Crohnos mintákat tekintve (2. táblázat)⁴. Az allélfrekvenciákat összehasonlítva elmondható, hogy az R702W mutáció esetén nem volt szignifikáns különbség a T allél frekvenciáját tekintve a gyerek Crohnos minták és a gyerek kontrollok között (2. táblázat)⁴.

2. táblázat: CARD15 gén variánsainak allélfrekvencia eloszlása gyerek Crohn betegekben és gyerek kontrollokban⁴.

		Gyerek Crohn betegek n=19	Gyerek kontrollok n=49
CARD15 genotípus			
R702W	CC	18 (94.7 %)	46 (93.9 %)
	CT	1 (5.3 %)	2 (4.1 %)
	TT	-	1 (2.0 %)
	T allél frekvencia	2.63 %	4.08 %
G908R	GG	14 (73.7 %)	48 (98.0 %)
	GC	3 (15.8 %)	1 (2.0 %)
	CC	2 (10.5 %)*	-
	C allél frekvencia	18.4 %*	1.02 %
1007finsC	--	13 (68.5 %)	46 (93.9 %)
	- insC	4 (21.0 %)	3 (6.1 %)
	insC insC	2 (10.5 %)*	-
	Cins allél frekvencia	21.1 %*	3.06 %

*P<0.05

Összevettem a gyerek Crohnos betegek eredményeit a felnőtt kontrollokkal is, ugyanis a klinikailag teljesen egészséges, random módon válogatott gyerek kontroll populáció 14 év körli átlagéletkorral rendelkezik és mivel az IBD kialakulása 20-40 éves korra tehető, ezért célszerű a kapott genetikai eredmények összehasonlítása a középkorú felnőtt kontroll populációval is, akiknek már biztosan nem lesz IBD-jük. A kapott adatok alapján kijelenthetjük, hogy a megválasztott gyerek kontroll populáció jónak bizonyult, ugyanis a felnőtt kontrollokhoz hasonlóan viselkedett. A szignifikanciaértékek jelző értékűek, a gyerek Crohnos betegeket összehasonlítva immár mindkét kontroll csoporttal ugyanazt az eredményt kaptuk: G908R és 1007finsC variáns esetén is a mutáns homozigóta és a mutáns allél frekvencia szignifikánsan emelkedett volt a gyerek CD csoportban a kontrollokhoz képest, míg R702W nem mutatott eltérést (3. táblázat).

3. táblázat: CARD15 gén variánsainak allélfrekvencia eloszlása gyerek Crohn betegekből és felnőtt kontrollokból (nem közölt adat).

		Gyerek Crohn betegek n=19	Felnőtt kontrollok n=94
CARD15 genotípus			
R702W	CC	18 (94.7 %)	87 (92.6%)
	CT	1 (5.3 %)	5 (5.3%)
	TT	-	2 (2.1%)
	T allél frekvencia	2.63 %	4.79%
G908R	GG	14 (73.7 %)	93 (98.9%)
	GC	3 (15.8 %)	1 (1.16%)
	CC	2 (10.5 %)*	-
	C allél frekvencia	18.4 %*	0.53%
1007finsC	--	13 (68.5 %)	90 (95.7%)
	- insC	4 (21.0 %)	4 (4.3%)
	insC insC	2 (10.5 %)*	-
	Cins allél frekvencia	21.1 %*	2.13%

*P<0.05

4.2. SLC22A4 gén C1672T, SLC22A5 gén G-207C

Vizsgálatunk tárgya 100 felnőtt Crohnos beteg (47 férfi, 53 nő, átlag életkor: 37.3 év) és 94 klinikailag egészséges kontroll (47 férfi, 47 nő, átlag életkor: 45.6 év) volt³. SLC22A4 C1672T nem mutatott szignifikáns eltérést TT homozigóták és T allél frekvencia szinten, összehasonlítva a felnőtt Crohnos betegcsoportot a felnőtt kontrollal (4. táblázat)³. SLC22A5 G-207C esetén sem a CC homozigóták, sem a C allél frekvencia nem különbözött szignifikánsan a két csoport között (4. táblázat)³. A TC haplotípus gyakorisága sem mutatott összefüggést a felnőtt Crohnos betegcsoport és a felnőtt kontrollok között (4. táblázat)³.

4. táblázat: SLC22A4 és SLC22A5 gének eltérései által meghatározott TC haplotípus és az allélok megoszlási gyakorisága felnőtt Crohnos betegcsoport és felnőtt kontroll populáció esetén³.

		Felnőtt Crohn betegek n=100	Felnőtt kontrollok n=94
SLC22A4 genotípus			
C1672T	CC	37 (37.0%)	28 (29.8%)
	CT	54 (54.0%)	45 (47.9%)
	TT	9 (9.0%)	21 (22.3%)
T allél frekvencia		36.0%	46.3%
SLC22A5 genotípus			
G-207C	GG	31 (31.0%)	19 (20.2%)
	GC	54 (54.0%)	51 (54.3%)
	CC	15 (15.0%)	24 (25.5%)
C allél frekvencia		42.0%	52.7%
TC haplotípus		9 (9.0%)	19 (20.2%)

*P<0.05

E két eltérést megvizsgáltuk 121 colitis ulcerosás betegben (47 férfi, 74 nő, átlag életkor: 47.8 év) és 110 kontrollban (59 férfi, 51 nő, átlag életkor: 46.7 év)³⁴. SLC22A4 C1672T esetén a T allél frekvencia és az SLC22A5 G-207C esetén a C allél frekvencia nem különbözött szignifikánsan a kontrolloktól (5. táblázat)³⁴. A TC haplotípus frekvenciában sem találtunk szignifikáns különbséget összehasonlítva a két csoportot (5. táblázat)³⁴.

5. táblázat: SLC22A4 és SLC22A5 gének eltérései által meghatározott TC haplotípus és az allélok megoszlási gyakorisága felnőtt colitis ulcerosás betegcsoport és felnőtt kontroll populáció esetén³⁴.

		Felnőtt colitis ulcerosás betegek n=121	Felnőtt kontrollok n=110
SLC22A4 genotípus			
C1672T	CC	38 (31.4%)	35 (31.8%)
	CT	53 (43.8%)	48 (43.6%)
	TT	30 (24.8%)	27 (24.5%)
T allél frekvencia		46.7%	46.4%
SLC22A5 genotípus			
G-207C	GG	33 (27.3%)	25 (22.7%)
	GC	58 (47.9%)	57 (51.8%)
	CC	30 (24.8%)	28 (25.5%)
C allél frekvencia		48.8%	51.4%
TC haplotípus		23 (19.0%)	25 (22.7%)

*P<0.05

Megvizsgáltunk 19 gyerek Crohnos beteget (14 fiú, 5 lány, átlag életkor: 13.4 év), és 49 kontroll gyerek mintát (28 fiú, 21 lány, átlag életkor: 14.4 év)⁴. Nem tudtunk kimutatni különbséget sem C1672T, sem G-207C variáns allélfrekvenciáit, sem a haplotípust tekintve a gyerek Crohnos betegpopuláció és a gyerek kontrollok között (6. táblázat)⁴.

6. táblázat: SLC22A4 és SLC22A5 gén variánsainak allélfrekvencia gyakorisága gyerek Crohnos betegcsoport és gyerek kontroll populáció esetén⁴.

		Gyerek Crohn betegek n=19	Gyerek kontrollok n=49
SLC22A4 genotípus			
C1672T	CC	4 (21.0 %)	12 (24.5 %)
	CT	11 (58.0 %)	25 (51.0 %)
	TT	4 (21.0 %)	12 (24.5 %)
T allél frekvencia		50.0 %	50.0 %
SLC22A5 genotípus			
G-207C	GG	3 (15.8 %)	10 (20.4 %)
	GC	7 (36.8 %)	26 (53.1 %)
	CC	9 (47.4%)	13 (26.5 %)
C allél frekvencia		65.8 %	53.1 %

*P<0.05

Összehasonlítva a gyerek Crohn betegek eredményeit a felnőtt kontrollokéval szintén nem tapasztaltunk eltérést az allélfrekvenciákat tekintve sem SLC22A4 C1672T, sem SLC22A5 G-207C esetén (7. táblázat). Hasonló eredményeket kaptunk, mint a gyerek kontroll populációval való összevetés esetén (7. táblázat). Ez a tény is azt erősíti, hogy a gyerek kontroll populáció jónak bizonyult a vizsgálataink során (7. táblázat).

7. táblázat: SLC22A4 és SLC22A5 gén variánsainak allélfrekvencia gyakorisága gyerek Crohnos betegcsoport és felnőtt kontroll populáció esetén (nem közölt adat).

		Gyerek Crohn betegek n=19	Felnőtt kontrollok n=94
SLC22A4 genotípus			
C1672T	CC	4 (21.0 %)	28 (29.8%)
	CT	11 (58.0 %)	45 (47.9%)
	TT	4 (21.0 %)	21 (22.3%)
	T allél frekvencia	50.0 %	46.3%
SLC22A5 genotípus			
G-207C	GG	3 (15.8 %)	19 (20.2%)
	GC	7 (36.8 %)	51 (54.3%)
	CC	9 (47.4%)	24 (25.5%)
	C allél frekvencia	65.8 %	52.7%

*P<0.05

4.3. CTLA4 gén A+49G

Az allélfrekvenciák Hardy-Weinberg szabály szerint alakultak mind a betegpopulációban, mind a kontrollokban³⁵. 130 Crohnos (55 férfi, 75 nő, átlag életkor: 43.0 év) és 150 colitis ulcerosás beteget (63 férfi, 87 nő, átlag életkor: 46.1 év) vizsgáltunk³⁵. A vizsgálatához 170 kontroll mintát gyűjtöttünk (49 férfi, 121 nő, átlag életkor: 57.7 év)³⁵. A G allél jelenléte önmagában nem jelent rizikótényezőt Crohn betegségre és colitis ulcerosára, sem GG homozigóta, sem AG heterozigóta genotípus esetén, sem a G allél frekvencia szintjén a kontrollokhoz viszonyítva (8. táblázat)³⁵.

8. táblázat: CTLA4 A+49G allélfrekvencia eloszlása Crohn betegekben és kontrollokban³⁵.

		Crohn betegek n=130	Colitis ulcerosás betegek n=150	Kontrollok n=170
CTLA4 genotípus				
+49A/G	AA	47 (36.2 %)	56 (37.3 %)	70 (41.2 %)
	AG	67 (51.5 %)	66 (44.0 %)	73 (42.9 %)
	GG	16 (12.3 %)	28 (18.6 %)	27 (15.9 %)
	G allél frekvencia	38.1 %	40.6 %	37.4 %

*P<0.05

4.4. IL23R gén rs10889677 C/A, rs2201841 T/C, rs1884444 G/T

Az IL23 gén vizsgálatát végeztük 190 Crohnos betegen (88 férfi, 102 nő, átlag életkor: 39.6 év) és 220 kontrollban (115 férfi, 105 nő, átlag életkor: 41.7 év)¹³. Rs10889677 AA genotípus szignifikánsan emelkedett volt Crohn betegeknél összehasonlítva az egészséges kontrollokkal (9. táblázat)¹³. Logisztikus regressziós analízis kimutatta, hogy ennek a genotípusnak a hordozása 2.19-szer hajlamosít jobban Crohn betegség kialakulására¹³. A másik hajlamosító variáns (rs2201840) esetén is szignifikánsan emelkedett CC homozigóta, illetve C allél frekvenciát találtunk (9. táblázat)¹³. Logisztikus regressziós analízis kimutatta, hogy aki hordozza a CC genotípust, annak 2.41-szer nagyobb a rizikófaktora Crohn betegség kialakulására¹³. Ugyanakkor a közömbös variáns (rs1884444) nálunk is annak bizonyult (9. táblázat)¹³.

9. táblázat: Az IL23R gén eltérései és azok által meghatározott allélfrekvenciák Crohn betegeknél és kontrolloknál¹³.

		Crohn betegek n=190	Kontrollok n=220
IL23R genotípus			
rs10889677	CC	75 (39.5%)	96 (43.6%)
	CA	92 (48.4%)	111 (50.5%)
	AA	23 (12.1%)*	13 (5.91%)
	A allél frekvencia	36.3%	31.1%
rs2201841	TT	75 (39.5%)	101 (45.9%)
	CT	90 (47.4%)	106 (48.2%)
	CC	25 (13.2%)*	13 (5.91%)
	C allél frekvencia	36.8%*	30.0%
rs1884444	GG	57 (30.0%)	55 (25.0%)
	GT	132 (69.5%)	162 (73.6%)
	TT	1 (0.53%)	3 (1.36%)
	T allél frekvencia	35.3%	38.2%

*P<0.05

5. EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A gyulladásoos bélbetegségek ismeretlen eredetű, visszatérő, sajátos krónikus lefolyást mutató, változatos intesztinális és extraintesztinális tünetekkel járó kórképek, melyek az emésztőrendszer nem-specifikus gyulladásához vezetnek, genetikai, környezeti és immunológiai tényezők komplex együtthatása eredményeként alakulnak ki³³. Genomot átfogó kapcsoltsági vizsgálat számos lehetséges IBD gén locust azonosított: a CARD15 gén, mely a NOD2 fehérjét kódolja, 3 eltérése (R702W, G908R, 1007finsC) hajlamosít Crohn betegség kialakulására; az SLC22A4 és SLC22A5 gének, melyek az OCTN1 és OCTN2 kation transzportereket kódolják, az általuk meghatározott TC haplotípus (SLC22A4 C1672T, SLC22A5 G-207C) megnövekedett rizikót jelent IBD kifejlődésére; a CTLA4 génben (+A49G) is találtak eltérést, mely összefüggésbe hozható CD-vel és UC-vel^{6,7,11,17,18,23,53,55}. Nagy jelentőséggel bír az IL23R gén 12 eltérése (rs1004819, rs7517847, rs10489629, rs2201841, rs11465804, rs11209026, rs1343151, rs10889677, rs11209032, rs1495965, rs7530511, rs 1884444), melyek közül egyesek hajlamosítanak IBD-re, mások védene ellene, ezek közül mi két hajlamosítót (rs10889677 és rs2201841), illetve egy közömbös eltérést emeltünk ki (rs1884444)¹². Ezeknek a nemzetközi irodalomban közölt IBD-vel kapcsolatban levő, de jelentős földrajzi különbségeket mutató géneknek a variánsait vizsgáltuk 442 IBD-s és 235 kontroll egyéntől vett perifériális vérből izolált DNS-mintákon. A kutatómunka célja annak megállapítása volt, hogy magyarországi felnőtt- és gyermek populációkban az 5 gén 9 locusának eltérései hajlamosítanak-e IBD kialakulására magyar populációban. A genetikai eredmények meghatározására PCR-t, majd ezt követően RFLP-t vagy direkt szekvenálást alkalmaztunk.

Ismert CARD15 mutációkat vizsgáltunk magyar felnőtt és elsőként magyar gyerek Crohnos populációban^{3,4}. A CARD15 gén mutációi közül az 1007finsC emelkedett mutáns allélfrekvenciát mutatott a felnőtt Crohnos betegcsoportban a felnőtt kontrollokhoz képest,

mely megmutatkozott az egy vagy két mutáns allélt hordozó heterozigóták, illetve homozigóták esetén is³, míg az R702W és a G908R nem mutatott szignifikáns eltérést a felnőtt Crohnos és a felnőtt kontroll csoport összehasonlítása során³. Megegerősítettük, hogy magyar felnőtt Crohnos populációban az 1007finsC kockázati tényezőt jelent Crohn betegség kialakulására³. Gyerek Crohnos mintákat vizsgálva a G908R és az 1007finsC esetén szignifikáns mutáns homozigóta és mutáns allélfrekvencia szintet kaptunk a gyerek kontrollokkal való összevetés során, ezen variánsok hajlamosítanak a betegségre, míg az R702W esetén nem találtunk összefüggést összehasonlítva a két csoportot⁴. CARD15 mutációkat vizsgálva elmondható, hogy magyaroknál a gyerek Crohnos profil különbözik a felnőtt Crohnos profiltól. Felnőtt Crohnosok esetén hasonló eredményt kaptunk mások által vizsgált magyar mintákhoz képest, ahol szintén az 1007finsC mutatott összefüggést a kialakult betegséggel kapcsolatban, míg az R702W és a G908R nem jelentett rizikótényezőt a betegség kialakulása szempontjából⁵. A CARD15 mutáció 3 variánsa R702W, G908R, 1007finsC hajlamosítanak Crohn betegség kialakulására^{32,59,62}, az azonban különböző populációktól függ, hogy a három variáns közül mindhárom⁴⁰, vagy csak egyesek², vagy egyik sem jelent rizikótényezőt a betegség kialakulása szempontjából^{24,31}.

Az SLC22A4 gén C1672T és az SLC22A5 gén G-207C eltérései által meghatározott TC haplotípus vizsgálatát végeztük először magyar felnőtt Crohn, colitis ulcerosás és az irodalomban először gyerek Crohn mintákon^{3,4,34}. Azt tapasztaltuk, hogy ez a haplotípus nem jelent rizikótényezőt gyulladásoos bélbetegségre sem felnőtt IBD-s^{3,34}, sem gyerek Crohnos betegpopulációban⁴. Az irodalomban különböző népcsoportokat vizsgáltak SLC22A4 C1672T és SLC22A5 G-207C esetén, és ez alapján elmondható, hogy bizonyos populációk esetén a TC haplotípus hajlamosít gyulladásoos bélbetegség kialakulására^{49,50,69}, míg más populációkban nem^{66,68}.

Megvizsgáltuk a CTLA4 A+49G eltérést magyar IBD populációban, és azt tapasztaltuk, hogy ez a variáns nem hajlamosít erre a betegségre magyaroknál³⁵. Az eredmények azt mutatják, hogy a CTLA4 A+49G SNP heterozigóta vagy homozigóta formája nem jelent kockázati tényezőt magyar IBD populációban³⁵. A CTLA4 A+49G esetén is elmondható, hogy különböző populációk esetén rizikótényező ez a variáns gyulladós bélbetegségekre, például japán populációban hajlamosít³³, míg kínai és holland populációkban nincs összefüggés ezen variáns és a kialakult betegség között⁷². A magyar populációban az általunk kapott eredmények a negatív eredményt támasztják alá.

Elsőként vizsgáltuk magyar populációban az IL23R eltéréseit, melyet Duerr és mts. írtak le 2006-ban¹². Az IL23R esetén a legszembetűnőbb a rizikótényező rs10889677 és rs2201841 esetén, ugyanis ott mind a homozigóták, mind az allélfrekvencia szintjén szignifikáns eltérést találtunk, így magyar populáció esetén ezeknek a variánsoknak a hordozása jelentős kockázatot jelent Crohn betegség kialakulására, míg az rs1884444 variáns közömbösnek bizonyult¹³. Az IL23R 2 hajlamosító variánsa (rs10889677 és rs2201841) magyar populációban hajlamosítónak bizonyult a zsidó és nem zsidó populációkhoz hasonlóan¹². Bár PhD témámnak nem része, munkacsoportunk megvizsgálta ezeket a variánsokat rheumatoid arthritises betegekben az irodalomban először, és azt találtuk, hogy az rs10889677 és az rs2201841 variánsok hajlamosítanak a betegség kialakulására magyar populációban¹³. Ez az eredmény összefügghet az IBD és az ízületi gyulladások gyakori együttes előfordulásával.

Az értekezésben bemutatott eredményeknek elsősorban a gyulladós bélbetegségek genetikai hátterének megismerésében és megértésében van jelentősége. Az újabb genetikai variánsok felderítése, genotípus-fenotípus összefüggések megállapítása elősegítheti a kockázati tényezők pontosabb megismerését, a korai diagnózist, a hatékonyabb megelőzést és kezelést.

6. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

I. Megállapíthatjuk, hogy az általunk vizsgált magyar felnőtt Crohnos populációban a CARD15 gén mutációi közül az 1007finsC hajlamosítónak bizonyult.

II. Gyerek Crohn betegeket vizsgálva kijelenthetjük, hogy magyar populációban a CARD15 gén eltérései közül a G908R és az 1007finsC is szuszceptibilitási ágensnek jelentenek.

III. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy az SLC22A4 gén C1672T és az SLC22A5 gén G-207C által meghatározott TC haplotípus nem mutat összefüggést magyar felnőtt populációban kialakult IBD-vel.

IV. Ugyanezt megvizsgálva gyerekekben felismertük, hogy a TC haplotípus szintén nem jelent hajlamosító tényezőt magyar gyerek Crohnos populációban.

V. CTLA4 A+49G eltérését analizálva magyar felnőtt Crohn és colitis ulcerosás betegpopulációban, megállapíthatjuk, hogy nincs konkrét összefüggés a vizsgált genetikai eltérés és az IBD között.

VI. IL23R gén variánsai tekintve az rs10889677 és az rs2201841 hajlamosítónak bizonyult magyar felnőtt Crohnos betegpopulációban.

7. ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

1. **Magyari L**, Bene J, Komlosi K, Talian G, Farago B, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Sipeky C, Lakner L, Varga M, Gasztonyi B, Melegh B. Prevalence of SLC22A4 1672T and SLC22A5 -207C Combination Defined TC Haplotype in Hungarian Ulcerative Colitis Patients. *Pathol Oncol Res.* 2007;13(1):53-6. IF:1.241
2. **Magyari L**, Farago B, Bene J, Horvatovich K, Lakner L, Varga M, Figler M, Gasztonyi B, Mozsik G, Melegh B. No association of the cytotoxic T-lymphocyte associated gene CTLA4 +49A/G polymorphisms with Crohn's disease and ulcerative colitis in Hungarian population samples. *World J Gastroenterol.* 2007;13(15):2205-8.
3. Bene J, **Magyari L**, Talian G, Komlosi K, Gasztonyi B, Tari B, Varkonyi A, Mozsik G, Melegh B. Prevalence of SLC22A4, SLC22A5 and CARD15 gene mutations in Hungarian pediatric patients with Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2006;12(34):5550-3.
4. Bene J, Komlosi K, **Magyari L**, Talian G, Horvath K, Gasztonyi B, Miheller P, Figler M, Mozsik G, Tulassay Z, Melegh B. Plasma carnitine ester profiles in Crohn's disease patients characterized for SLC22A4 C1672T and SLC22A5 G-207C genotypes. *Br J Nutr.* 2007;98(2):345-50. IF:2.708
5. Farago B, **Magyari L**, Safrany E, Csongei V, Jaromi L, Horvatovich K, Sipeky C, Maasz A, Radics J, Gyetvai A, Szekanecz Z, Czirjak L, Melegh B. Functional variants of interleukin-23 receptor gene confer risk for rheumatoid arthritis but not for systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2008 Feb;67(2):248-50. Epub 2007 Jul 2. IF:5.767

8. CSATLAKOZÓ KÖZLEMÉNYEK

1. Illes Z, Safrany E, Peterfalvi A, **Magyari L**, Farago B, Pozsonyi E, Rozsa C, Komoly S, Melegh B. 3'UTR C2370A allele of the IL-23 receptor gene is associated with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurosci Lett*. 2007 Nov 17; (Epub ahead of print) IF:2.092
2. Maasz A, Kisfali P, Horvatovich K, Mohas M, Marko L, Csongei V, Farago B, Jaromi L, **Magyari L**, Safrany E, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B. Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. *Pathol Oncol Res*. IF:1.241
3. Farago B, Talian G, Maasz A, **Magyari L**, Horvatovich K, Kovacs B, Cserep V, Kisfali P, Kiss G C, Czirjak L, Melegh B Prevalence of functional haplotypes of the peptidylarginine deiminase citrullinating enzyme gene in patients with rheumatoid arthritis: no influence of the presence of anti-citrullinated peptide antibodies. *Clin Exp Rheumatol*. 2007;25(4):523-8. IF:2.189
4. Szolnoki Z, Maasz A, **Magyari L**, Horvatovich K, Farago B, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Bodor A, Hadarits F, Melegh B. The combination of homozygous MTHFR 677T and angiotensin II type-1 receptor 1166C variants confers the risk of small-vessel-associated ischemic stroke. *J Mol Neurosci*. 2007;31(3):201-7. IF:2.965
5. Safrany E, Csongei V, Jaromi L, Maasz A, **Magyari L**, Sipeky C, Melegh B. Mitochondrial DNA and its mutations: novel fields in a new era. *Orv Hetil*. 2007;27;148(21):971-8. Hungarian.
6. Banyai K, Jiang B, Bogdan A, Horvath B, Jakab F, Meleg E, Martella V, **Magyari L**, Melegh B, Szucs G. Prevalence and molecular characterization of human group C rotaviruses in Hungary. *J Clin Virol*. 2006 Dec;37(4):317-22. Epub 2006 Sep 25. IF:2.630
7. Szolnoki Z, Maasz A, **Magyari L**, Horvatovich K, Farago B, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Fodor L, Bodor A, Hadarits F, Melegh B. Coexistence of angiotensin II type-1 receptor A1166C and angiotensin-converting enzyme D/D polymorphism suggests susceptibility for small-vessel-associated ischemic stroke. *Neuromolecular Med*. 2006;8(3):353-60. IF:3.396

8. Maasz A, Horvatovich K, **Magyari L**, Talian Csaba G, Bokor S, Laczy B, Tamasko M, Molnar D, Wittmann I, Melegh B. Search for mitochondrial DNA T4291C mutation in Hungarian patients with metabolic syndrome. Orv Hetil. 2006;16;147(15):693-6. Hungarian.

9. Komlosi K, Talian C G, Farago B, **Magyari L**, Cserep V, Kovacs B, Bene J, Havasi V, Kiss G C, Czirjak L, Melegh B. No influence of SLC22A4 C6607T and RUNX1 G24658C genotypic variants on the circulating carnitine ester profile in patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2008;26; (elfogadva, közlés alatt) IF:2.189

9. IDÉZHETŐ ABSZTRAKTOK

1. Horvatovich K, **Magyari L**, Maasz A, Talian C G, Tamasko M, Laczy B, Wittmann I, Melegh B. Search for mitochondrial DNA T4,291C mutation in Hungarian metabolic syndrome patients. *Eur J Hum Genet.* 2005;13 Suppl. 1, 279.
2. **Magyari L**, Horvatovich K, Bene J, Komlosi K, Nemes E, Melegh B. Novel phenotypic variant of the OCTN2 V295X mutation. *Eur J Hum Genet.* 2006;14 Suppl. 1, 268
3. Horvatovich K, **Magyari L**, Maasz A, Farago B, Laczy B, Marko L, Wittmann I, Melegh B. Association between APOA5-T1131C mutation and triglyceride level in Hungarian patients with metabolic syndrome and diabetes mellitus. *Eur J Hum Genet.* 2006;14 Suppl. 1, 236.
4. Farago B, Talian G, Maasz A, **Magyari L**, Horvatovich K, Kovacs B, Cserep V, Kisfali P, Kiss C, Melegh B. Padi4_89*G/A, padi4_90*T/C and padi4_92*G/C SNPs in the gene of the peptidylarginine deiminase citrullinating enzyme type 4 (PADI4) are not associated with rheumatoid arthritis in Hungarian patients. *Eur J Hum Genet.* 2006;14 Suppl. 1, 326.
5. Talian C G, Horvatovich K, Maasz A, **Magyari L**, Illes T, Melegh B. New polymorphisms in the *filaminB* gene: novel candidates for causing disease? *Eur J Hum Genet.* 2006;14 Suppl. 1, 250.
6. **Magyari L**, Farago B, Safrany E, Csongei V, Horvatovich K, Jaromi L, Sipeky C, Melegh B. IL-23 receptor 3'UTR C2370A variant in inflammatory bowel disease: differential profile in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 255.
7. Farago B, **Magyari L**, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Horvatovich K, Sipeky C, Maasz A, Radies J, Czirjak L, Melegh B. Interleukin 23 receptor 3'-UTR C2370A SNP confers risk for rheumatoid arthritis. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 256.

8. Horvatovich K, **Magyari L**, Maasz A, Kisfali P, Farago B, Bokor S, Mohas M, Molnar D, Melegh B. Apolipoprotein A5 T-1131C alleles in pediatric patients with obesity and metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 178.
9. Talian C G, Komlosi K, **Magyari L**, Nemes E, Kaposzta R, Mogyorosy G, Mehes K, Melegh B. Investigation of plasma carnitine ester profiles in a family with homozygous and heterozygous OCTN2 deficiency. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 216.
10. Safrany E, Farago B, Csongei V, **Magyari L**, Maasz A, Sipeky C, Jaromi L, Horvatovich K, Czirjak L, Radics J, Melegh B. Interleukin-23 receptor (IL23R) gene C2370A polymorphism in scleroderma patients. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 256.
11. Maasz A, Horvatovich K, Kisfali P, Mohas M, Marko L, Csongei V, Farago B, Jaromi L, **Magyari L**, Safrany E, Sipeky C, Wittman I, Melegh B. Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 178.
12. Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Sipeky C, Maasz A, **Magyari L**, Horvatovich K, Farago B, Takacs I, Melegh B. Polymorphisms of the MDR1 gene in Hungarian Roma population samples. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 260.
13. Kisfali P, Mohas M, Horvatovich K, Maasz A, Marko L, Csongei V, Farago B, Jaromi L, **Magyari L**, Safrany E, Sipeky C, Wittman I, Melegh B. Common allelic variants of APOA5 gene in the metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 210.
14. Sipeky C, Csongei V, Farago B, Horvatovich K, Jaromi L, **Magyari L**, Safrany E, Takacs I, Melegh B. Polymorphisms of CYP2C9 and VKORC1 genes associated with the warfarin metabolism in Hungarian Roma population. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 282.
15. Jaromi L, Maasz A, Szolnoki Z, Kisfali P, Horvatovich K, Csongei V, **Magyari L**, Safrany E, Sipeky C, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene T1259C polymorphism associated with elevated circulating triglyceride levels but does not confer susceptibility for ischaemic stroke. *Eur J Hum Genet.* 2007;15 Suppl. 1, 235.

16. Illes Z, Farago B, Peterfalvi A, **Magyari L**, Pozsonyi E, Rozsa C, Komoly S, Melegh B. 3'UTR C2370A allele of the IL-23 receptor gene is associated with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2007;13 Suppl. 2, S202.

10. IRODALOMJEGYZÉK

1. Ahmedov G et al: Genetic association of type 1 diabetes in an Azerbaijanian population: the HLA-DQ, -DRB1*04, the insulin gene, and CTLA4. *Pediatr Diabetes* 7: 88-93, 2006
2. Arnott ID et al: NOD2/CARD15, TLR4 and CD14 mutations in Scottish and Irish Crohn's disease patients: evidence for genetic heterogeneity within Europe? *Genes Immun* 5: 417-425, 2004
3. Bene J et al: Plasma carnitine ester profiles in Crohn's disease patients characterized for SLC22A4 C1672T and SLC22A5 G-207C genotypes. *Br J Nutr* 98: 345-350, 2007
4. Bene J et al: Prevalence of SLC22A4, SLC22A5 and CARD15 gene mutations in Hungarian pediatric patients with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 12: 5550-5553, 2006
5. Buning C et al: NOD2/CARD15 gene polymorphism in patients with inflammatory bowel disease: is Hungary different? *World J Gastroenterol* 11: 407-411, 2005
6. Cho JH et al: Identification of novel susceptibility loci for inflammatory bowel disease on chromosomes 1p, 3q, and 4q: evidence for epistasis between 1p and IBD1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 7502-7507, 1998
7. Cho JH et al: Linkage and linkage disequilibrium in chromosome band 1p36 in American Chaldeans with inflammatory bowel disease. *Hum Mol Genet* 9: 1425-1432, 2000
8. Danese S,Fiocchi C: Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 12: 4807-4812, 2006
9. Dotan I: [Inflammatory bowel diseases: in search of novel cytokines and genes]. *Harefuah* 145: 817-9, 861, 2006
10. Dr.Kovács Ágota: Gyulladásos bélbetegségek, colitis ulcerosa és Crohn-betegség. *SpringMed Kiadó*. 2005

11. Duerr RH et al: High-density genome scan in Crohn disease shows confirmed linkage to chromosome 14q11-12. *Am J Hum Genet* 66: 1857-1862, 2000
12. Duerr RH et al: A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 314: 1461-1463, 2006
13. Farago B et al: Functional variants of interleukin-23 receptor gene confer risk for rheumatoid arthritis but not for systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*, 2007
14. Ferraris A et al: Analysis of CARD15 gene variants in Italian pediatric patients with inflammatory bowel diseases. *J Pediatr* 147: 272-273, 2005
15. Furuzawa-Carballeda J et al: Autoimmune inflammation from the Th17 perspective. *Autoimmun Rev* 6: 169-175, 2007
16. Gazouli M et al: Single nucleotide polymorphisms of OCTN1, OCTN2, and DLG5 genes in Greek patients with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 11: 7525-7530, 2005
17. Hampe J et al: Evidence for a NOD2-independent susceptibility locus for inflammatory bowel disease on chromosome 16p. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 321-326, 2002
18. Hampe J et al: A genomewide analysis provides evidence for novel linkages in inflammatory bowel disease in a large European cohort. *Am J Hum Genet* 64: 808-816, 1999
19. Han S et al: CTLA4 polymorphisms and ophthalmopathy in Graves' disease patients: association study and meta-analysis. *Hum Immunol* 67: 618-626, 2006
20. Hue S et al: Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation. *J Exp Med* 203: 2473-2483, 2006
21. Hugot JP et al: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411: 599-603, 2001
22. Hugot JP, Cho JH: Update on genetics of inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 18: 410-415, 2002

23. Hugot JP et al: Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 379: 821-823, 1996
24. Inoue N et al: Lack of common NOD2 variants in Japanese patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 123: 86-91, 2002
25. Iwakura Y, Ishigame H: The IL-23/IL-17 axis in inflammation. *J Clin Invest* 116: 1218-1222, 2006
26. Jantchou P et al: [Environmental risk factors in Crohn's disease and ulcerative colitis (excluding tobacco and appendectomy)]. *Gastroenterol Clin Biol* 30: 859-867, 2006
27. Kornya L: *Betegség Enciklopédia*. Springer Tudományos Kiadó Kft. 2002
28. Lee CS et al: Association of CTLA4 gene A-G polymorphism with rheumatoid arthritis in Chinese. *Clin Rheumatol* 22: 221-224, 2003
29. Lee YH et al: No association of polymorphisms of the CTLA-4 exon 1(+49) and promoter(-318) genes with rheumatoid arthritis in the Korean population. *Scand J Rheumatol* 31: 266-270, 2002
30. Lei C et al: Association of the CTLA-4 gene with rheumatoid arthritis in Chinese Han population. *Eur J Hum Genet* 13: 823-828, 2005
31. Leong RW et al: NOD2/CARD15 gene polymorphisms and Crohn's disease in the Chinese population. *Aliment Pharmacol Ther* 17: 1465-1470, 2003
32. Lesage S et al: CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet* 70: 845-857, 2002
33. Machida H et al: Association of polymorphic alleles of CTLA4 with inflammatory bowel disease in the Japanese. *World J Gastroenterol* 11: 4188-4193, 2005
34. Magyari L et al: Prevalence of SLC22A4 1672T and SLC22A5 -207C combination defined TC haplotype in Hungarian ulcerative colitis patients. *Pathol Oncol Res* 13: 53-56, 2007

35. Magyari L et al: No association of the cytotoxic T-lymphocyte associated gene CTLA4 +49A/G polymorphisms with Crohn's disease and ulcerative colitis in Hungarian population samples. *World J Gastroenterol* 13: 2205-2208, 2007
36. Mahid SS et al: Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 81: 1462-1471, 2006
37. Mandl J and Machovich R: *Orvosi Pathobiokémia*. Medicina Könyvkiadó. 2006
38. Martin-Pagola A et al: No association of CTLA4 gene with celiac disease in the Basque population. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 37: 142-145, 2003
39. Martinez A et al: Association of the organic cation transporter OCTN genes with Crohn's disease in the Spanish population. *Eur J Hum Genet* 14: 222-226, 2006
40. McGovern DP et al: NOD2 (CARD15), the first susceptibility gene for Crohn's disease. *Gut* 49: 752-754, 2001
41. McKenzie BS et al: Understanding the IL-23-IL-17 immune pathway. *Trends Immunol* 27: 17-23, 2006
42. Medici V et al: Extreme heterogeneity in CARD15 and DLG5 Crohn disease-associated polymorphisms between German and Norwegian populations. *Eur J Hum Genet* 14: 459-468, 2006
43. Nagy F: [Colitis ulcerosa]. *Orv Hetil* 148: 954-956, 2007
44. Nagy F: [Crohn disease]. *Orv Hetil* 148: 1000-1003, 2007
45. Naluai AT et al: The CTLA4/CD28 gene region on chromosome 2q33 confers susceptibility to celiac disease in a way possibly distinct from that of type 1 diabetes and other chronic inflammatory disorders. *Tissue Antigens* 56: 350-355, 2000
46. Newman B et al: A risk haplotype in the Solute Carrier Family 22A4/22A5 gene cluster influences phenotypic expression of Crohn's disease. *Gastroenterology* 128: 260-269, 2005

47. Nistico L et al: The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. Belgian Diabetes Registry. *Hum Mol Genet* 5: 1075-1080, 1996
48. Noble CL et al: The contribution of OCTN1/2 variants within the IBD5 locus to disease susceptibility and severity in Crohn's disease. *Gastroenterology* 129: 1854-1864, 2005
49. Palmieri O et al: Variants of OCTN1-2 cation transporter genes are associated with both Crohn's disease and ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 23: 497-506, 2006
50. Peltekova VD et al: Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease. *Nat Genet* 36: 471-475, 2004
51. Pena AS: Contribution of genetics to a new vision in the understanding of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 12: 4784-4787, 2006
52. Pierik M et al: Pharmacogenetics in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 12: 3657-3667, 2006
53. Rioux JD et al: Genetic variation in the 5q31 cytokine gene cluster confers susceptibility to Crohn disease. *Nat Genet* 29: 223-228, 2001
54. Russell RK et al: Analysis of the influence of OCTN1/2 variants within the IBD5 locus on disease susceptibility and growth indices in early onset inflammatory bowel disease. *Gut* 55: 1114-1123, 2006
55. Satsangi J et al: Two stage genome-wide search in inflammatory bowel disease provides evidence for susceptibility loci on chromosomes 3, 7 and 12. *Nat Genet* 14: 199-202, 1996
56. Schreiber S et al: Genetics of Crohn disease, an archetypal inflammatory barrier disease. *Nat Rev Genet* 6: 376-388, 2005
57. Silverberg MS: OCTNs: will the real IBD5 gene please stand up? *World J Gastroenterol* 12: 3678-3681, 2006

58. Siminovitch KA: Advances in the molecular dissection of inflammatory bowel disease. *Semin Immunol* 18: 244-253, 2006
59. Sun L et al: CARD15 genotype and phenotype analysis in 55 pediatric patients with Crohn disease from Saxony, Germany. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 37: 492-497, 2003
60. Suppiah V et al: The CTLA4 +49 A/G*G-CT60*G haplotype is associated with susceptibility to multiple sclerosis in Flanders. *J Neuroimmunol* 164: 148-153, 2005
61. Suppiah V et al: The CTLA4+49A/G and CT60 polymorphisms and chronic inflammatory arthropathies in Northern Ireland. *Exp Mol Pathol* 80: 141-146, 2006
62. Tomer G et al: NOD2/CARD15 variants are associated with lower weight at diagnosis in children with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 98: 2479-2484, 2003
63. Torkvist L et al: Contribution of the IBD5 locus to Crohn's disease in the Swedish population. *Scand J Gastroenterol* 42: 200-206, 2007
64. Torkvist L et al: Contribution of CARD15 variants in determining susceptibility to Crohn's disease in Sweden. *Scand J Gastroenterol* 41: 700-705, 2006
65. Torok HP et al: Polymorphisms in the DLG5 and OCTN cation transporter genes in Crohn's disease. *Gut* 54: 1421-1427, 2005
66. Tosa M et al: Lack of association between IBD5 and Crohn's disease in Japanese patients demonstrates population-specific differences in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 41: 48-53, 2006
67. Vaidya B et al: CTLA4 gene and Graves' disease: association of Graves' disease with the CTLA4 exon 1 and intron 1 polymorphisms, but not with the promoter polymorphism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58: 732-735, 2003
68. Vermeire S et al: Association of organic cation transporter risk haplotype with perianal penetrating Crohn's disease but not with susceptibility to IBD. *Gastroenterology* 129: 1845-1853, 2005
69. Waller S et al: Evidence for association of OCTN genes and IBD5 with ulcerative colitis. *Gut* 55: 809-814, 2006

70. Waterman M et al: [The significance of IL-13 gene +2044G/A mutation in patients with inflammatory bowel disease]. *Harefuah* 145: 789-92, 864, 2006
71. Weiss B et al: NOD2/CARD15 mutation analysis and genotype-phenotype correlation in Jewish pediatric patients compared with adults with Crohn's disease. *J Pediatr* 145: 208-212, 2004
72. Xia B et al: CTLA4 gene polymorphisms in Dutch and Chinese patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 37: 1296-1300, 2002
73. Yang H et al: Inflammatory bowel disease. I. Genetic epidemiology. *Mol Genet Metab* 74: 1-21, 2001
74. Yen D et al: IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. *J Clin Invest* 116: 1310-1316, 2006
75. Zalloua PA et al: Patients with early onset of type 1 diabetes have significantly higher GG genotype at position 49 of the CTLA4 gene. *Hum Immunol* 65: 719-724, 2004

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Melegh Béla Professor Úrnak, aki lehetővé tette, hogy részt vegyek ebben a kutatásban, szakmai tevékenységemet mindvégig figyelemmel kísérte, kutató munkámat irányította és segítette. Hasznos útmutatásai, meglátásai tették lehetővé közleményeim megjelenését és számos kongresszuson való részvételemet. Köszönettel tartozom hazai együttműködő partnereinknek, Dr. Buzás Editnek, Dr. Falus Andrásnak, Dr. Figler Máriának, Dr. Gasztonyi Beátának, Dr. Lakner Lillának, Dr. Miheller Pálnak, Dr. Mózsik Gyulának, Dr. Varga Mártának, Dr. Tulassay Zsoltnak, akik közreműködtek a minták gyűjtésével, a betegadatok feldolgozásával kapcsolatban. Tudományos pályafutásom alatt együtt dolgoztam olyan kitűnő asszisztensnőkkel, mint Oksai Judit, Papp Edit, akik hozzáértő és lelkiismeretes munkájára mindig is számíthattam. Köszönöm továbbá intézetünk PhD hallgatóinak szakmai és emberi segítségét, valamint azt a támogatást, amit munkám során kaptam. Végül köszönöm családom megértő türelmét, szeretetét és bátorítását.