

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Patogenetikai tényezők vizsgálata rheumatoid arthritisben és szisztémás lupus erythematosusban

Dr. Nagy György



SEMMELWEIS EGYETEM



BUDAI IRGALMASRENDI
KÓRHÁZ

III. SZ. BELGYÓGYÁSZATI KLINIKA
REUMATOLÓGIAI TANSZÉKI CSOPORT

GENETIKAI, SEJT- ÉS IMMUNBIOLÓGIAI
INTÉZET

BUDAPEST
2014

1. Előszó

Az elmúlt évtizedben az orvostudomány minden területén látványos fejlődésnek lehettünk tanúi, talán nem túlzás, ha az immunológiát az egyik leggyorsabban fejlődő tudományágnak tekintjük. Az immunológiai alapismeretek, a betegségek patomechanizmusának mind részletesebb feltárása, újabb és újabb gyógyszerek megjelenése jól tükrözi ezt a rohamos fejlődést. A szisztémás autoimmun kórképek osztályozása, diagnózisa és terápiája szintén folyamatosan változik. A transzlációs szemlélet segítségével megtalálhatók olyan összefüggések az alapkutatás, a klinikai kutatás és a gyógyszerfejlesztés között, amelyek gyorsabbá teszik a kísérletes eredmények hasznosítását a klinikai gyakorlatban. Ez a szemlélet jelentősen hozzájárul a biotechnológia és az innovatív gyógyszergyártás fejlődéséhez. Az értekezés témájaként a rheumatoid arthritist (RA) és a szisztémás lupus erythematosust (SLE) választottam, két olyan kórképet, amelyekkel klinikusként és kutatóként is foglalkozom. Mindkét betegségről rendelkezésre álló ismeretek bővülése jól mutatja az immunológia szépségét és páratlanul gyors fejlődését.

2. Bevezetés

Az immunrendszer sokrétű feladatai közé tartozik a szervezet védelme a fertőzésektől valamint a daganatok növekedésének a gátlása. A patogének elleni védelemhez a saját és nem saját elkülönítése, a daganatok felismeréséhez pedig a megváltozott saját struktúrák azonosítása szükséges. A kórokozók vagy a daganatos sejtek nem kellő hatékonysággal történő eliminációja betegséghez vezethet. Az egészséges saját struktúrák ellen nem alakul ki destruáló immunválasz, ezt toleranciának nevezzük. A tolerancia sérülése kóros autoimmunitáshoz, autoimmun betegséghez vezethet.

A természetes és az adaptív immunrendszer működése is megváltozhat autoimmun betegségekben. Az autoimmun betegségek többsége multifaktoriális, kialakulásukban alapvető szerepe van genetikai faktoroknak és környezeti tényezőknek (például egyes fertőzéseknek). A hajlamosító tényezők összessége a kórkép kiváltásához szükséges küszöbértéket elérve betegséghez vezet. Effektor tényezők, így például citokinek és kemokinek felelősek a gyulladás kialakulásáért, mely végül irreverzibilis szöveti károsodáshoz vezethet.

A szisztémás autoimmun kórképeket akár évekkel megelőzően kialakulhat a kóros autoimmunitásra utaló

immunregulációs zavar, mely elsősorban antitestek és/vagy specifikus T-lymphocyták megjelenésével jár, és jelenléte valószínűsíti az autoimmun betegség kialakulását.

Az RA elsősorban a kéz és a láb kisízületeit érintő kórkép, prevalenciája 0,4-0,6 százalék, nők körében háromszor gyakrabban fordul elő. Az SLE igen színes klinikai képpel járó betegség, szinte minden szervet érinthet, jellemző a bőr-, ízületi, vese-, hematológiai, központi idegrendszeri érintettség, nőkben kilencszer gyakoribb, mint férfiakban, prevalenciája nők körében 1:800-1000 közé tehető. Az RA és az SLE szisztémás autoimmun betegségek, melyek patogenezisében, klinikai képében és kezelésében markáns különbségek mellett számos hasonlóság is található, előfordul mindkét kórkép jellemzőit mutató betegség is.

3. Célkitűzések

Kísérleteink célja az RA és az SLE patomechanizmusának vizsgálata volt. Törekedtünk a mindkét kórkép kialakulásához vezető tényezők és az effektor mechanizmusok szabályozásának jobb megértését célzó kísérletek elvégzésére.

I: Természetes autoantitestek vizsgálata RA-ban

II: Genetikai polimorfizmusok tanulmányozása

III: A citrullináció szerepének vizsgálata a tolerancia elvesztésében; citrullinált proteinek elleni antitestek specifitásának és antigénkötésének vizsgálata

IV: C1-inhibitor elleni antitestek SLE-ben

V: A nitrogén-monoxid (NO) szerepének vizsgálata a T-lymphocyt-aktivációban

VI: A CD3- ζ -expresszió szabályozásának vizsgálata

VII: A glikozidázok szerepének vizsgálata RA-ban

VIII: Az extracelluláris vesiculák (EV) karakterizálása és vizsgálata

4. Módszerek

4.1. Biológiai minták

Munkánk során RA-s, SLE-s, juvenilis idiopathiás arthritisben (JIA) szenvedő, tüdőrákos és arthrosisos betegek és kontrollok mintáit vizsgáltuk. Az NO és a hisztamin immunmoduláns hatását hisztidin-dekarboxiláz géniütött (HDC-KO) egéren és vad típusú egéren vizsgáltuk. Az aggregán immundomináns epitop citrullinációjának immunmoduláns hatását BALB/c egéren vizsgáltuk.

4.2. T-lymphocyta- és fibroblast-szeperálás és sejt kultúra

A perifériás vérből Ficoll-Histopaque centrifugálással perifériás vér mononukleáris sejteket izoláltunk. Mágneses sejtseparálás módszerével tisztítottuk a CD4 T-lymphocytákat. A synovialis fibroblastokat (SF) térdprotézis-műtéten vagy térdartroszkópián átesett betegek synovialismembrán (SM) -mintáiból nyertük.

4.3. Nitrogén-monoxid- és reaktív oxigénintermedierek kezelése és -gátlás

Az NO és a reaktív oxigénintermedierek (ROI) hatásait NO-donor, ROI-donor, NO-kezelő és szuperoxid-dizmutáz-mimikáló alkalmazásával vizsgáltuk.

4.4. Áramlási citometria

A citoplazmatikus és mitokondriális Ca^{2+} -mérés, a mitokondriális membránpotenciál és méret meghatározása, az NO- és ROI-termelés mérése, sejt felszíni és intracelluláris

fehérjék vizsgálata és az EV-k karakterizálása áramlási citometriával történt.

4.5. Konfokális mikroszkópia

A CD3- ζ -lánc és az Src-Like Adaptor Protein (SLAP) intracelluláris elhelyezkedését konfokális mikroszkópiával vizsgáltuk.

4.6. Transzmissziós elektronmikroszkópia, atomerő mikroszkópia

Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM) és atomerő mikroszkópia (AFM) módszerrel tanulmányoztuk az EV-k méretét és szerkezetét. A lymphocyták mitokondriumainak szerkezetét szintén TEM módszerrel vizsgáltuk.

4.7. Tömegspektrometria

A hisztidinkoncentráció mérése, az ízületi folyadékból szeparált microvesiculák fehérjetartalmának vizsgálata, és a szintetizált peptidek karakterizálása tömegspektrometriával történt.

4.8. Western blot

A CD3- ζ -lánc, a SLAP, az NO-szintetizáló enzimek (NOS) expresszióját Western blot módszerrel mértük.

4.9. Enzyme-linked immunosorbent assay és enzyme-linked immunosorbent spot assay

Citokinek, antitestek és egyéb fehérjék szintjét sejt kultúra-felülszóban, szérumban vagy synovialis folyadékban enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) módszerrel mértük. Egyedi sejtek interferon- (IFN) γ -, interleukin- (IL) 10-,

IL-4- és IL-17-termelését enzyme-linked immunosorbent spot (ELISPOT) módszerrel vizsgáltuk.

4.10. Nitrit/nitrát és ATP-mérés

Vad típusú és HDC-KO egerektől nyert szérumból nitrát/nitrit meghatározása High-Sensity Nitrit Assay Kit alkalmazásával történt. Az ATP-mérés luciferin-luciferáz módszerrel történt.

4.11. Polimeráz-láncreakció alapú technikák, transzfekció

Az egyes nukleotid-polimorfizmus (single nucleotid polimorfizmus, SNP) genotipizáláshoz TaqMan alléldiszkriminációs módszert alkalmaztunk. A NOS-, az INF- γ -, hexozaminidáz (Hex) A-, HexB-, HexD- és a CD3- ζ mRNS-szintet real time PCR módszerrel mértük. SLAP small interfering RNA (siRNA) -transzfekcióval tanulmányoztuk a SLAP szerepét a CD3- ζ -lánc szabályozásában.

4.12. Enzimhisztokémia és immunhisztokémia

A glikozidázokat enzimhisztokémiával azonosítottuk. A glükózaminoglikán- (GAG) ellenes antitesteket és a citrullinált proteinek szöveti kifejeződését immunhisztokémiával vizsgáltuk.

4.13. Citrullint tartalmazó peptidek szintézise

A peptidek előállítása szilárd fázisú peptidszintézissel történt, Fmoc^tBu stratégiát alkalmazva.

4.14. Extacelluláris vesiculák izolálása, differenciál detergens lízis

Az EV-k vizsgálatára hígított natív mintákat (plazma, ízületi folyadék) vagy izolált vesiculákat használtunk. A vesiculák

detergensérzékenységét áramlási citometriával tanulmányoztuk.

4.15. Dinamikus fényszórásmérés és Nanoparticle Tracking Analysis

Dinamikus fényszórásmérés és Nanoparticle Tracking Analysis módszerekkel tanulmányoztuk az EV-k méretét.

4.16. Turbidimetria

A CRP-szintet turbidimetriás módszerrel határoztuk meg.

5. A legfontosabb tudományos eredmények összefoglalása, a kísérletes munka potenciális gyakorlati jelentősége a célkitűzések szerint:

5.1.: Természetes autoantitestek vizsgálata RA-ban

- A természetes autoantitestek közé tartozó anti-GAG-antitestek szintje RA-s betegek szérummintáiban magasabb, mint az egészséges kontrollokéban. A természetes autoantitestek mérése a természetes immunválasz aktivitását tükröző információ lehet RA-ban.

5.2.: Genetikai polimorfizmusok tanulmányozása

- 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 az rs10399931 human cartilage glycoprotein (HCgp) -39 polimorfizmus. A galectin 8 vizsgálata hozzájárulhat a betegség genetikai hátterének pontosabb felméréséhez.

5.3.: A citrullináció szerepének vizsgálata a tolerancia elvesztésében; citrullinált proteinek elleni antitestek specifitásának és antigénkötésének vizsgálata

- Tüdőrákos betegek mintáinak vizsgálata alapján a citrullinált proteinek és a peptidil-arginin-deimináz- (PAD) 4 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 (citokeratin-7) CK7-festődése igen jól korrelált.

- A PAD4-festés alkalmas lehet a tumoros szövetek elkülönítésére.
- Citrullinált aggregán immundomináns epitop peptidekkel történt immunizációt, majd a citrullinált peptiddel történő *in vitro* restimulációt követően a nyirokcsomósejtek IFN- γ -termelése magasabb a nem citrullinált peptiddel történő restimulációhoz képest.
- Az N- vagy C-terminális biotinizáció nem befolyásolja érdemben a citrullinált protein ellenes antitest (ACPA) kötődését 19 aminosavból álló citrullinált peptid esetében, míg az 5 aminosavból álló peptid N-terminális biotinizációja gátolta az antitest kötődését.
- Az N- és a C-terminális biotinizáció hatását is érdemes vizsgálni különböző hosszúságú linkerek alkalmazása mellett, különösen rövid peptidek elleni antitestek mérésére szolgáló új ACPA ELISA tesztek fejlesztése során, az antitestkötődés optimalizálása érdekében.

- Az általunk szintetizált peptidek alkalmasak lehetnek a citrullinált proteinekkel reagáló antitesteket tartalmazó, de a rutin diagnosztikai módszerekkel álnegatív eredményt adó minták azonosítására.
- Az RA-s betegek autoantitestjei a kereskedelmi forgalomban elérhető ACPA ELISA-kitekhez hasonlóan reagálnak citrullinált filaggrin, vimentin és kollagén peptidekkel.
- A citrullinációnak a tolerancia áttörésében játszott szerepére irányuló munkánk eredményei hozzájárulhatnak az utóbbi időben egyre inkább vizsgált, a betegség megelőzését szolgáló terápiás lehetőségek kifejlesztéséhez.

5.4.: C1-inhibitor elleni antitestek SLE-ben

- Az anti C1-inhibitor szérumszintje magasabb 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.

5.5.: Az NO szerepének vizsgálata a T-lymphocyt-aktivációban

- Humán T-lymphocytákban az eNOS és az nNOS expresszálódik, a T-lymphocyt-aktiváció az eNOS- és nNOS-protein-szinteket többszörösére növeli.

- A T-lymphocyt-aktiváció során termelődő NO hozzájárul a sejtaktivációhoz és a mitokondriális membránpotenciál növekedéséhez.
- Több és nagyobb mitokondriumot tartalmaznak az SLE-s betegek T-lymphocytái, mint az egészséges kontrollokból nyert sejtek.
- Az SLE-s betegek monocytái lényegesen több NO-t termelnek, míg a T-sejtek NO-termelése nem fokozott lupusban az egészséges kontrollokéhoz képest.
- A gyors Ca^{2+} -szignál nagyobb, a fenntartott Ca^{2+} -szignál kisebb SLE-s betegek T-lymphocytáin. A Ca^{2+} -szignál megváltozásához hozzájárul a monocytákból származó NO-termelés és a következményes mitokondrium-bioszintézis.
- Az RA-s betegek T-lymphocytáinak az NO-termelése fokozott az egészséges kontrollokból szeparált T-lymphocytákhoz képest.
- Tumornekrózis-faktor- (TNF) blokkoló kezelés mellett az RA-s betegek T-lymphocytáinak az NO-termelése csökken.

- Hisztamin hiányában a HDC-KO egerek lépsejtjeinek IFN- γ -termelése mind protein-, mind mRNS-szinten nagyobb mértékű, mint a vad típusú állat lépsejtjeinek az IFN- γ -termelése.
- A hisztamin az NO-termelés szabályozása révén is hatással van a T-lymphocyták citokintermelésére és jelátviteli folyamataira.
- Az NO-termelés mérése potenciális biomarker, míg az NO-gátlás potenciális terápiás célpont RA-ban és SLE-ben.

5.6.: A CD3- ζ -expresszió szabályozásának vizsgálata

- A TNF- α dóziszfüggő módon, szelektíven és reverzibilisen csökkenti a CD3- ζ -lánc kifejeződését humán CD4 T-sejteken.
- A TNF- α -kezelés csökkenti az anti-CD3-antitest-stimulációra mérhető Ca²⁺-szignált és IL-2-termelést.
- A TNF- α -kezelés fokozza a SLAP mennyiségét és a CD3- ζ -lánc proteaszómális lebomlását.
- RA-s betegek T-sejtjeiben a SLAP expressziója nagyobb az egészséges kontrollokénál. A TNF-blokkoló

kezelésben részesülő betegek CD4 T-lymphocytáinak TNF- α -kezelése nem fokozza a SLAP kifejeződését.

- A SLAP terápia célpont lehet RA-ban.

5.7.: A glikozidázok szerepének vizsgálata RA-ban

- A human HCgp-39, a hexozamidáz (Hex) A és a HexB is expresszálódott a synovialis fibroblastokban.
- A transzformáló növekedési factor- (TGF) β , TNF- α , IL-1 β , IL-17 és az NO-donor NOC-18 gátolja, vagy érdemben nem befolyásolja az RA-s és arthrosisos betegek térdízületéből izolált fibroblastok Hcgp-39-, HexA-, HexB- és β -D-glükuronidáz-expresszióját.
- A nem hőérzékeny HexD enzim a felelős a synovialis mintákban mérhető galaktózaminidáz-aktivitás jelentős részéért.
- RA-s és arthrosisos betegek synovialis fibroblast eredetű microvesiculáiban β -D-glükuronidáz- és HexD-enzimaktivitás mérhető.

5.8.: Az extracelluláris vesiculák karakterizálása és vizsgálata

- Triton X-100-kezelést követően jelentősen csökken az annexinpozitív és a CD41-pozitív események száma (mikrovesiculák/MVk), míg az IgG- és IgM-jelöléssel ábrázolódó struktúrák (immunkomplexek) mennyisége nem változik.
- Az RA-s betegek synovialis mintáiban nagyobb mennyiségben található CD8⁺ MV, mint az arthrosisos betegek esetében, ugyanakkor a CD4⁺ MV-k számában nem találtunk különbséget a két betegcsoport között.
- A detergens módszer alkalmas biológiai mintákban (ízületi folyadék, szérum) az immunkomplexek és az EV-k mennyiségének mérésére.
- Az MV-k mint biomarkerek alkalmasak lehetnek a synovialis sejtaktiváció vizsgálatára.

6. Az értekezés alapját képező közlemények

1: Buzas EI, György B, **Nagy G**, Falus A, Gay S. Emerging role of extracellular vesicles in inflammatory diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2014; Feb 18. doi: 10.1038/nrrheum.2014.19.

2: Babos F, Szarka E, **Nagy G**, Majer Z, Sármy G, Magyar A, Hudecz F. Role of N- or C-terminal biotinylation in autoantibody recognition of citrullin containing filaggrin epitope peptides in rheumatoid arthritis. *Bioconjug Chem.* 2013; May 15;24(5):817-27.

3: Szarka E, Babos F, Magyar A, Huber K, Szittner Z, Papp K, Prechl J, Pozsgay J, Neer Z, Adori M, **Nagy G**, Rojkovich B, Gáti T, Kelemen J, Baka Z, Brózik M, Pazár B, Poór G, Hudecz F, Sármy G. Recognition of new citrulline-containing peptide epitopes by autoantibodies produced in vivo and in vitro by B cells of rheumatoid arthritis patients. *Immunology.* 2014; Feb;141(2):181-91.

4: Misják P, Bószé S, Horváti K, Pásztói M, Pálóczi K, Holub MC, Szakács F, Aradi B, György B, Szabó TG, **Nagy G**, Glant TT, Mikecz K, Falus A, Buzás EI. The role of citrullination of an immunodominant proteoglycan (PG) aggrecan T cell epitope in BALB/c mice with PG-induced arthritis. *Immunol Lett.* 2013; Apr 8;152(1):25-31.

5: György B, Szabó TG, Turiák L, Wright M, Herczeg P, Lédeczi Z, Kittel A, Polgár A, Tóth K, Dérfalvi B, Zelenák G, Böröcz I, Carr B, **Nagy G**, Vékey K, Gay S, Falus A, Buzás EI. Improved flow cytometric assessment reveals distinct microvesicle (cell-derived microparticle) signatures in joint diseases. PLoS One. 2012; 7(11):e49726.

6: Pásztói M, Sódar B, Misják P, Pálóczi K, Kittel A, Tóth K, Wellinger K, Géher P, **Nagy G**, Lakatos T, Falus A, Buzás EI. The recently identified hexosaminidase D enzyme substantially contributes to the elevated hexosaminidase activity in rheumatoid arthritis. Immunol Lett. 2012; Oct 23. doi:pii: S0165-2478(12)00224-6.

7: Érsek B, Molnár V, Balogh A, Matkó J, Cope AP, Buzás EI, Falus A, **Nagy G**. CD3 ζ -chain expression of human T lymphocytes is regulated by TNF via Src-like adaptor protein-dependent proteasomal degradation. J Immunol. 2012; Aug 15;189(4):1602-10.

8: Pál Z, Antal P, Srivastava SK, Hullám G, Semsei AF, Gál J, Svébis M, Soós G, Szalai C, André S, Gordeeva E, **Nagy G**, Kaltner H, Bovin NV, Molnár MJ, Falus A, Gabius HJ, Buzás EI. Non-synonymous single nucleotide polymorphisms in genes for immunoregulatory galectins: Association of

galectin-8 (F19Y) occurrence with autoimmune diseases in a Caucasian population. *Biochim Biophys Acta*. 2012; Oct;1820(10):1512-8.

9: Baka Z, György B, Géher P, Buzás EI, Falus A, **Nagy G**. Citrullination under physiological and pathological conditions. *Joint Bone Spine*. 2012; Oct;79(5):431-6.

10: Baka Z, Barta P, Losonczy G, Krenács T, Pápay J, Szarka E, Sármay G, Babos F, Magyar A, Géher P, Buzás EI, **Nagy G**. Specific expression of PAD4 and citrullinated proteins in lung cancer is not associated with anti-CCP antibody production. *Int Immunol*. 2011; Jun;23(6):405-14.

11: György B, Szabó TG, Pásztói M, Pál Z, Misják P, Aradi B, László V, Pállinger E, Pap E, Kittel A, **Nagy G**, Falus A, Buzás EI. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci*. 2011; May 11.

12: György B, Módos K, Pállinger E, Pálóczi K, Pásztói M, Misják P, Deli MA, Sipos A, Szalai A, Voszka I, Polgár A, Tóth K, Csete M, **Nagy G**, Gay S, Falus A, Kittel A, Buzás EI. Detection and isolation of cell-derived microparticles are compromised by protein complexes resulting from shared biophysical parameters. *Blood*. 2011; Jan 27;117(4):e39-48.

13: **Nagy G**, Koncz A, Telarico T, Fernandez D, Ersek B, Buzás E, Perl A. Central role of nitric oxide in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(3):210.

14: Srivastava SK, Antal P, Gál J, Hullám G, Semsei AF, **Nagy G**, Falus A, Buzás EI. Lack of evidence for association of two functional SNPs of CHI3L1 gene (HCgp-39) with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2010; Mar 19. DOI: 10.1007/s00296-010-1396-3.

15: Mészáros T, Füst G, Farkas H, Jakab L, Temesszentandrás G, **Nagy G**, Kiss E, Gergely P, Zeher M, Grieger Z, Czirják L, Hóbor R, Haris A, Polner K, Varga L. C1-inhibitor autoantibodies in SLE. *Lupus* 2010; 19(5):634-8.

16: Baka Z, Buzás E, **Nagy G**. Rheumatoid arthritis and smoking: putting the pieces together. *Arthritis Res Ther.* 2009; 11(4):238. DOI: 10.1186/ar2751.

17: Pásztói M, **Nagy G**, Géher P, Lakatos T, Tóth K, Wellinger K, Pócza P, György B, Holub MC, Kittel A, Pálóczy K, Mazán M, Nyirkos P, Falus A, Buzas EI. Gene expression and activity of cartilage degrading glycosidases in human rheumatoid arthritis and osteoarthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Res Ther.* 2009; 11(3):R68. DOI: 10.1186/ar2697.

18: György B, Tóthfalusi L, **Nagy G**, Pásztói M, Géher P, Lőrinc Z, Polgár A, Rojkovich B, Ujfalussy I, Poór G, Pócza P, Wiener Z, Misják P, Koncz A, Falus A, Buzás EI. Natural autoantibodies reactive with glycosaminoglycans in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2008; 10(5):R110 DOI: 10.1186/ar2507.

19: **Nagy G**, Clark JM, Buzas E, Gorman C, Pasztoi M, Koncz A, Falus A, Cope AP. Nitric oxide production of T lymphocytes is increased in rheumatoid arthritis. *Immunol Lett.* 2008; Jun 15;118(1):55-8.

20: Koncz A, Pasztoi M, Mazan M, Fazakas F, Buzas E, Falus A, **Nagy G**. Nitric oxide mediates T cell cytokine production and signal transduction in histidine decarboxylase knockout mice. *J Immunol.* 2007; Nov 15;179(10):6613-9.

21: **Nagy G**, Clark JM, Buzás EI, Gorman CL, Cope AP. Nitric oxide, chronic inflammation and autoimmunity. *Immunol Lett.* 2007; Jul 31;111(1):1-5.

22: **Nagy G**, Perl A. Nitric Oxide, Mitochondrial Hyperpolarization and T-Cell Activation Free Radical Biology and Medicine. 2007; Jun 1;42(11):1625-31.

23: **Nagy G**, Perl A. The role of nitric oxide in abnormal T cell signal transduction in systemic lupus erythematosus. Clin Immunol. 2006; Feb-Mar;118(2-3):145-51. 2006 Jan 10.

24: **Nagy G**, Koncz A, Perl A. T- and B-cell abnormalities in systemic lupus erythematosus. Crit Rev Immunol. 2005; 25(2):123-40.

25: **Nagy G**, Koncz A, Phillips PE, Perl A. Mitochondrial signal transduction abnormalities in systemic lupus erythematosus Curr Immunol Rev 2005; 1:61-67.

26: **Nagy G**, Barcza M, Gonchoroff N, Phillips PE, Perl A. Nitric oxide-dependent mitochondrial biogenesis generates Ca²⁺ signaling profile of lupus T cells. J Immunol 2004; 173:3676-3683.

27: Perl A, Gergely P Jr, **Nagy G**, Koncz-A, Banki K. Mitochondrial hypopolarization: a checkpoint of T-cell life, death and autoimmunity. Trends Immunol 2004; 25:360-367.

28: Perl A, **Nagy G**, Gergely P, Puskas F, Qian Y, Banki K. Apoptosis and mitochondrial dysfunction in lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus. Methods Mol Med. 2004; 102:87-114.

29: **Nagy G**, Koncz A, Perl A. T cell activation induced mitochondrial hyperpolarization is mediated by Ca^{2+} and redox dependent production of nitric oxide. *J Immunol* 2003; 171:5188-5197.

7. További közlemények, könyvfejezetek

1: van Vollenhoven RF, **Nagy G**, Tak PP. Early start and stop of biologics: has the time come? BMC Med. 2014; Feb 6;12:25. doi: 10.1186/1741-7015-12-25.

2: Timár CI, Lorincz AM, Csépanyi-Kömi R, Vályi-Nagy A, **Nagy G**, Buzás EI, Iványi Z, Kittel A, Powell DW, McLeish KR, Ligeti E. Antibacterial effect of microvesicles released from human neutrophilic granulocytes. Blood. 2013; Jan 17;121(3):510-8.

3: Mong N, Géher P, **Nagy G**. Az IL-12 citokincsalád központi szerepe az immunválasz kialakításában. Immunológiai Szemle. 2013; 5:(4) pp. 19-22.

4: Szabó-Taylor KE, **Nagy G**, Eggleton P, Winyard PG. Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis In: Alcaraz Maria Jose, Gualillo Oreste, Sánchez-Pernaute Olga (szerk.) Studies on Arthritis and Joint Diseases. 683 p. Dordrecht: Springer - Business Media B.V., 2013; pp. 145-167.

5: Gaujoux-Viala C, Knevel R, Mandl P, **Nagy G**, Frank M, Machado P, Hatemi G, Buch MH, Aletaha D, Gossec L; EMEUNET working group. Who are the young professionals working in the field of rheumatology in Europe and what are

their needs? An EMEUNET (EMerging EUlar NETwork) survey. *Ann Rheum Dis.* 2012; Aug;71(8):1432-3.

6: Marton N, Buzás E, Géher P, Falus A, **Nagy G**. Az osteoclastok aktivitásának humorális és farmakológiai szabályozása. *Immunológiai Szemle* 2012; 4(2):11-15.

7: Baricza E, Buzás E, Falus A, **Nagy G**. Az immunglobulin evolúciója. *Mediart* 2012; 1:3-6.

8: Pállinger É, Buzás E, Falus A, **Nagy G**, Holub MC, Tóth S, Kőhidai L, Pál Z, Fülöp AK (szerk.). *Immunológiai szemináriumok (e-book)*. Budapest: Semmelweis Egyetem, 2012; 223 p.

9: Sarmay G, Szarka E, Pozsgay J, Szili D, Babos F, **Nagy G**, Rojkovich B, Magyar A, Hudecz F. Citrullin-containing peptides as B-cell epitopes. In: Kiss T, Perczel A (szerk.). *4th European Conference on Chemistry for Life Sciences 4 ECCLS*. 126 p. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2011.08.31-2011.09.03. Bologna, Medimond International Proceedings,. 2011; pp. 95-103.

10: Szappanos Á, Fritsch K, Géher P, **Nagy G**. A rheumatoid arthritis 2010-es klasszifikációs kritériumai. *Háziorvosi Továbbképző Szemle* 2011; 16 (8):394-397.

11: Koncz Á, Kelemen J, Kelenhegyi K, Géher P, **Nagy G**.
Biológiai terápia a rheumatoid arthritis kezelésében.
Háziorvosi Továbbképző Szemle 2011; 16(9):463-465.

12: **Nagy G**. A reumatológiai betegségek pathogenezise. In:
Szekanecz Zoltán (szerk.) Reumatológia: egyetemi jegyzet.
Budapest: SpringMed Kiadó, 2011; pp. 33-55.

13: Baka Z, Tóth S, Buzás EI, Falus A, **Nagy G**. A nem
szerepe rheumatoid arthritisben. Magyar Reumatológia 2011;
52(2):91-95.

14: Pásztói M, Misják P, György B, Aradi B, Szabó GT, Szántó
B, Holub MC, **Nagy G**, Falus A, Buzás EI. Infection and
autoimmunity: Lessons of animal models. Eur J Microb
Immunol 2011; 1:(3) pp. 198-207.

15: Baka Z, Senolt L, Vencovsky J, Mann H, Simon PS, Kittel
A, Buzás E, **Nagy G**. Increased serum concentration of
immune cell derived microparticles in
polymyositis/dermatomyositis. Immunol Lett. 2010; Feb
16;128(2):124-30.

16: Toth K, Barna I, **Nagy G**, Wellinger K, Horvath G, Bender
T. Synovial fluid β -endorphin level in avascular necrosis,

rheumatoid arthritis, and osteoarthritis of the femoral head and knee. A controlled pilot study. Clin Rheumatol. 2010; Sep 21.

17: Baka Z, **Nagy G**. Nanoantitestek. Magyar Reumatológia 2010; 51(4):278-280.

18: Baka Z, **Nagy G**. Biomechanika egy kicsit más szemmel. Mediart 2010; 3:3-6.

19: **Nagy G**, Kiss E. Legfontosabb kérdések és válaszok a lupusról. Budapest: Magyar Lupus Egyesület, 2010; pp. 1-23.

20: **Nagy G**. Kortikoszteroid és immunszuppresszív terápia. In: Szekanecz Z (szerk.) Reumatológiai gyógyszeres terápia. Budapest: Medicina Könyvkiadó, 2009; pp. 51-90.

21: Koncz Á, **Nagy G**. A D-vitamin felfedezésétől napjainkig. Mediart 2009; 1(2):18-20.

22: Szabó TG, Palotai R, Antal P, Tokatly I, Tóthfalusi L, Lund O, **Nagy G**, Falus A, Buzás EI. Critical role of glycosylation in determining the length and structure of T cell epitopes. Immunome Res. 2009; Sep 24;5:4.

23: Oláh M, Koncz A, Fehér J, Kálmánczhey J, Oláh C, Balogh S, **Nagy G**, Bender T. The effect of balneotherapy on

C-reactive protein, serum cholesterol, triglyceride, total antioxidant status and HSP-60 levels. *Int J Biometeorol.* 2010; May;54(3):249-54.

24: Wiener Z, Pocza P, Racz M, **Nagy G**, Tolgyesi G, Molnar V, Jaeger J, Buzas E, Gorbe E, Papp Z, Rigo J, Falus A. IL-18 induces a marked gene expression profile change and increased Ccl1 (I-309) production in mouse mucosal mast cell homologs. *Int Immunol.* 2008; Dec;20(12):1565-73.

25: Qian Y, Banerjee S, Grossman CE, Amidon W, **Nagy G**, Barcza M, Niland B, Karp DR, Middleton FA, Banki K, Perl A. Transaldolase deficiency influences the pentose phosphate pathway, mitochondrial homeostasis and apoptosis signal processing. *Biochem J.* 2008; Oct 1;415(1):123-34.

26: **Nagy G**. Szolubilis receptorok és TNF-blokkolás. *Magyar Reumatológia* 2008; 49:188-189.

27: Gáti T, Pajor A, Géher P, **Nagy G**. Systemic Lupus Erythematosus and pregnancy. *Orvosi Hetilap* 2008; 149(16):723-731.

28: Perl A, **Nagy G**, Koncz A, Gergely P, Fernandez D, Doherty E, Telarico T, Bonilla E, Phillips PE. *Molecular*

mimicry and immunomodulation by the HRES-1 endogenous retrovirus in SLE. *Autoimmunity*. 2008; May;41(4):287-97.

29: **Nagy G**, Géher P. Génexpresszió gyulladásoos reumatológiai betegségeekben: kommentár. *Orvostovábbképző Szemle* 2007; 14(12):24-25.

30: Illiczky S, Kamondi A, Aranyi Z, Varallyay G, Gaal B, Szirmai I, **Nagy G**. Simultaneous central and peripheral nervous system involvement in systemic lupus erythematosus. *Ideggyogy Sz.* 2007; 60(9-10):398-402.

31: Bender T, **Nagy G**, Barna I, Tefner I, Kádas E, Géher P. The effect of physical therapy on beta-endorphin levels. *Eur J Appl Physiol*. 2007; Jul;100(4):371-82.

32: **Nagy G**, Ward J, Mosser DD, Koncz A, Gergely P, Stancalo C, Qian YM, Fernandez D, Niland B, Grossmann CE, Telanco T, Banki K, Perl A. Regulation of CD4 expression via recycling by HRES-1/RAB4 controls susceptibility to HIV infection. *J Biol Chem*. 2006; Aug 24;281:34574-34591.

33: **Nagy G**. Korai arthritis és korai rheumatoid arthritis: új adatok: kommentár. *Orvostovábbképző Szemle*. 2006; 13(9):104-106.

34: **Nagy G**, Géher P, Koncz A, Perl A. Jelátviteli defektusok szisztémás lupus erythematosusban. Orvosi Hetilap. 2005; 146(31):1625-1630.

35: Kerényi Á. **Nagy G**. Veres A. Varga L. Füst A. Nagymihány A. Czumbel N. Suveges I. Füst G. C1r-C1s-C1inhibitor (C1rs-C1inh) complex measurements in tears of patients before and after penetrating keratoplasty. Curr Eye Res 2002; Feb;24(2):99-104.

36: **Nagy G**, Horváth A, Füst G, Romics L, Gergely P, Karádi I. Anticholesterol antibody levels in patients with systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis 2001; 60:722-723.

37: **Nagy G**, Brozik M, Tornoci L, Gergely P. Diagnostic value of combined evaluation of neopterin and anti-DNA antibody levels for assessment of disease activity in systemic lupus erythematosus. Clin Exp Rheumatol 2000; 18:699-705.

38: **Nagy G**, Pallinger E, Antal-Szalmas P, Aleksza M, Marschalko M, Brozik M, Falus A, Gergely P. Measurement of intracellular interferon-gamma and interleukin-4 in whole blood T lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. Immunology Letters 2000; 74:207-210.

39: **Nagy G**, Brozik M, Varga L, Füst G, Kirschfink M, Kiss E, Gergely P. Usefulness of detection of complement activation products in evaluating SLE activity. *Lupus* 2000; 9:19-25.

40: Csiszár A, **Nagy G**, Gergely P, Pozsonyi T, Pocsik E. Increased interferon-gamma (IFN- λ), IL-10 and decreased IL-4 mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol* 2000; 122:464-470.

41: Rohács T, **Nagy G**, Spät A. Cytoplasmatic Ca²⁺ signalling and reduction of mitochondrial pyridine nucleotides in adrenal glomerulosa cells in response to K⁺, angiotensin II and vasopressin. *Biochem J* 1997; 322:785-792.

8. Tudománymetriai adatok

	Impakt faktor
Az értekezés alapját képező közlemények:	129,85
A PhD-dolgozatban nem szereplő további közlemények:	44,53
A PhD-dolgozatban szereplő közlemények:	8,22
Összesen:	182,6
	Hivatkozások száma
Összes hivatkozások száma:	1280
Független hivatkozások száma:	1051
	Hirsch index
	18

9. Köszönetnyilvánítás

Elsőként **Buzás Edit professzor asszonynak**, a Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológia Intézet igazgatójának tartozom köszönettel, akinek tudományos eredményeimben, kutatóvá válásomban meghatározó szerepe volt, és az elmúlt több mint egy évtizedes közös munkánk során irányította és mindenben segítette tudományos tevékenységemet.

Köszönettel tartozom **Falus András professzor úrnak**, akinek előadásait hallgatva egyetemistaként megszerettem az immunológiát, és aki később lehetőséget biztosított a kísérleteim megvalósításához. Hálás vagyok **Géher Pál professzor úrnak**, aki a napi klinikai tevékenység mellett is lehetővé tette és támogatta kutatómunkám folytatását. **Perl András professzor úrnak** köszönöm, hogy irányításával a syracuse-i egyetemen dolgozhattam. Köszönöm **Bender Tamás** és **Gömör Béla professzor urak** támogatását.

A kutatást az Élettani Intézet diákköröseként szerettem meg, hálás vagyok **Rohács Tibor** és **Spät András professzoroknak**, akik tudományos pályám indításában sokat segítettek. Szeretnék köszönetet mondani **Ligeti Erzsébet professzor asszonynak** tanácsaiért, támogatásáért. Köszönettel tartozom korábbi tanárimnak, **Gergely Péter** és

Karádi István professzornak tudományos és klinikai ambícióim megvalósításában nyújtott folyamatos támogatásukért.

Köszönettel tartozom korábbi és jelenlegi PhD hallgatóimnak: **Baka Zsuzsannának, Baricza Eszternek, Érsek Barbarának és Marton Nikolettnek**. Hálás vagyok **Magyar Anna és Sármay Gabriella professzor asszonynak** az elmúlt években végzett közös munka lehetőségéért. Köszönöm **Andrew P Cope, Iain B. McInnes és Steffen Gay professzornak**, hogy lehetőséget biztosítottak nemzetközi szintű kollaborációk megteremtésére. Köszönettel tartozom minden hazai és külföldi kollégának, akikkel volt alkalmam kísérletes vagy klinikai területen közös projekteken részt venni. Szeretném megköszönni a Budai Irgalmasrendi Kórházban és a Semmelweis Egyetemen, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézetben dolgozó minden munkatársamnak, hogy türelmükkel és megértésükkel támogatták munkámat. Köszönettel tartozom **Füst György professzor úrnak és Kelemen Judit főorvos asszonynak**, akik támogatták, segítették kutatásaimat, de sajnos a doktori munkám elkészültét már nem érhették meg.

Szeretnék köszönetet mondani szüleimnek, akiknek pályaválasztásomban, orvossá válásomban meghatározó szerepük volt és ma is féltő szemmel követik karrieremet.

Hálás vagyok feleségemnek, **Koncz Ágnesnek**, aki az ideális családi háttér biztosítása mellett éveken át munkatársamként is jelentősen hozzájárult kutatásaim eredményességéhez. Köszönöm gyermekeimnek, **Annabellának** és **Barbarának** szerető türelmét és a munkámmal járó csaknem folyamatos elfoglaltság megértését.