

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

**Az autoimmun folyamat aktivitásának megítélése
endokrin orbitopathiában**

Dr. Ujhelyi Bernadett

Témavezető: Prof. Dr. Nagy Endre



DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2012

Tartalomjegyzék

1.	Rövidítések jegyzéke.....	4
2.	Bevezetés és irodalmi áttekintés	5
2.1.	Az endokrin orbitopathia epidemiológiája, etiológiája és pathogenesise.....	5
2.2.	Az endokrin orbitopathia klinikai megjelenése és stádiumbeosztása.....	8
2.3.	Az endokrin orbitopathia kezelésének irányelvei.....	12
2.3.1.	Az endokrin orbitopathia immunoszuppresszív kezelése	12
2.3.2.	Az endokrin orbitopathia szemészeti kezelése.....	13
2.4.	Az immunológiai aktivitás szerepe a kezelési stratégia megválasztásában	15
2.5.	Az EOP immunológiai aktivitásának megítélésére használt módszerek.....	17
2.5.1.	A Clinical Activity Score	17
2.5.2.	Laboratóriumi vizsgálatok.....	18
2.5.3.	Képalkotó vizsgálatok	18
2.5.4.	A nukleáris medicina technikáinak alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében	19
2.6.	A szemfelszínen és könnymirigyben lezajló változások endokrin orbitopathiában..	20
3.	Célkitűzések	22
3.1.	A ^{99m} Tc-DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében	22
3.2.	A könny citokin-, kemokin- és PAI-1- tartalmának meghatározása EOP és Graves-Basedow kór esetén	22
4.	Betegadatok és módszerek	23
4.1.	A ^{99m} Tc-DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében	23
4.1.1.	Betegcsoportok.....	23
4.1.2.	Szemészeti és belgyógyászati vizsgálatok és terápia	23
4.1.3.	^{99m} Tc DTPA SPECT vizsgálat és követési idő	24
4.1.4.	Speciális számítások és statisztikai feldolgozás.....	25
4.2.	A könny citokin-, kemokin- és PAI-1- tartalmának meghatározása aktív EOP, inaktív EOP és Graves-Basedow kór esetén	26
4.2.1.	Betegcsoportok.....	26
4.2.2.	Szemészeti és endokrin vizsgálatok	26
4.2.3.	A könnyminták gyűjtésének metodikája	27
4.2.4.	Citokin, kemokin és PAI-1 meghatározása könnyben	28
4.2.5.	Speciális számítások és statisztikai feldolgozás.....	28
5.	Eredmények.....	30
5.1.	A ^{99m} Tc-DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében	30
5.1.1.	Az egészséges orbita normál DTPA felvett aktivitás értékének meghatározása ...	30

5.1.2. Az EOP DTPA SPECT-tel mért javulása az immunosuppresszív kezelés hatására	30
5.1.3. EOP aktivitás CAS alapján, valamint CAS és DTPA összefüggése	30
5.1.4. A DTPA SPECT-tel mért „valódi javulás” mértékének meghatározása	31
5.1.5. DTPA SPECT prediktív értéke az immunosuppresszív kezelés várható hatékonyságának előrejelzésében.....	32
5.2. A könny citokin-, kemokin- és PAI-1- tartalmának meghatározása EOP és Graves-Basedow kór esetén.....	33
5.2.1. A szemészeti vizsgálatok eredményei.....	33
5.2.2. Könnyminták citokin, kemokin és PAI-1 meghatározás eredményei	33
6. Megbeszélés	39
7. Az új eredmények összefoglalása	49
7.1. A ^{99m} Tc-DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében	49
7.2. A könny citokin-, kemokin- és PAI-1- tartalmának meghatározása EOP és Graves-Basedow kór esetén.....	49
8. Summary	50
9. A tudományos eredmények hasznosíthatósága	51
10. Irodalomjegyzék.....	52
11. Kenézy Élettudományi Könyvtár által hitelesített publikációs lista	60
12. Tárgyszavak	63
13. Keywords	63
14. Köszönetnyilvánítás	64
15. Függelék: További saját publikációk jegyzéke és bekötött publikációk.....	65
15.1. Az értekezés témájában megjelent idézhető absztraktok.....	65
15.2. Az értekezés témájához kapcsolódó posztterek	65
15.3. Az értekezés témájához kapcsolódó előadások	65
15.4. Egyéb előadások jegyzéke	66

1. Rövidítések jegyzéke

EOP	endokrin orbitopathia
GB	Graves-Basedow kór
GAG	glükózaminoglikán
IL	interleukin
HLA	human leukocyta antigén
IGF-1	insulin like growth factor-1
TNF- α	tumor necrosis faktor-alfa
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
RANTES	regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted
EUGOGO	European Group on Graves' Orbitopathy
CAS	clinical activity score
MR	mágneses rezonancia magnetic resonance imaging
CT	computer tomographia
ROI	region of interest
SPECT	single photon emission computed tomography
DTPA	dietilén triamin pentaacetát
BUT	break up time
HPLC	high performance liquid chromatography
TSH	thyreoidea stimuláló hormon
T4	thyroxin
T3	trijód-tironin
TRAb	TSH receptor elleni antitest
PAI-1	plazminogén aktivátor inhibitor-1

2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

2.1. Az endokrin orbitopathia epidemiológiája, etiológiája és pathogenesise

Az endokrin orbitopathia autoimmun pajzsmirigy betegségekhez társuló kórkép. Első leírása közel kétszáz évre nyúlik vissza (1-3), pontos etiopathogenesise azonban jelenleg sem ismert. Megnevezésére számos egyéb kifejezés is szolgál, például az angol nyelvű irodalomban a pajzsmirigybetegséghez társuló ophthalmopathia (Thyroid Associated Ophthalmopathy, TAO) illetve a Graves' orbitopathia (Graves' Orbitopathy, GO) elnevezés is használatos. Az EOP a Graves-Basedow kór (GB) leggyakoribb extrathyreoidális megjelenési formája; a betegek több mint 90%-a GB kórban szenved (4). A Graves-Basedow kóros páciensek 25-50%-ában alakul ki manifeszt EOP, a gyakoriság a választott diagnosztikus kritériumoktól is függ (5). Társulhat azonban Hashimoto thyreoiditishez, illetve euthyreoid állapotban is előfordulhat (6). Az euthyreoid betegekben többnyire kimutatható szubklinikus pajzsmirigy működészavar (7). A betegek mintegy 80%-ában a pajzsmirigy- és a szemtünetek időben egyszerre jelentkeznek, 10%-ban a pajzsmirigybetegség fennállása után évekkel alakul ki orbitopathia, míg körülbelül az esetek 10%-ában az orbitopathia megelőzi a pajzsmirigybetegség megjelenését (8). Függetlenül attól, hogy az EOP vagy a GB alakul ki előbb, az érintett betegek 80%-ában 18 hónapon belül manifesztálódik a másik betegség (9).

Az EOP éves incidenciája nők esetén 16/100 000 fő, férfiak esetén 3/100 000 fő (10). Manifesztációja az ötödik évtizedben a leggyakoribb, de a hetedik évtizedben egy újabb emelkedés figyelhető meg az előfordulási gyakoriságban (5). Magyarországon a betegség 35-55 éves kor között a leggyakoribb, második előfordulási csúcs nem figyelhető meg. A betegség nők között gyakoribb (nő:férfi arány 2:1) (4), azonban a súlyosabb forma a férfiakra jellemzőbb (itt a nő:férfi arány 1:4) (5).

A betegségre hajlamosító tényezők közül megemlítendő az etnikai eredet; kaukázusi populációban gyakrabban fordul elő, mint ázsiaiakban, azonban ritkább mint afro-amerikaiakban (11, 12). A csontos orbita anatómiája is befolyásolhatja az EOP kialakulását (13). A hajlamosító genetikai tényezők kutatása jelenleg is intenzíven zajlik. Chen és munkatársai a HLA egyes genotípusairól számolt be, mint hajlamosító tényezőről és arról, hogy az allél frekvencia az eltérő populációkban eltérő megoszlást mutat (14). Emellett számos gén polimorfizmusa merült fel, mint a betegség genetikai háttere (pl. methyléntetrahidrofolát reduktáz (15), protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22

(PTPN22) (16), beta-2-adrenerg receptor (ADRB2) (17), PPAR-gamma (18), közöttük több citokin gén esetleges szerepe is vizsgálatok tárgyát képezi (pl, IL-10, IL-4 (19) és IL-1 β (20)). Jelentősek továbbá a befolyásolható rizikótényezők. A dohányzás az egyik legfontosabb rizikófaktor. Az elszívott cigaretták száma proporcionálisan növeli a betegség kialakulásának kockázatát (21). Az aktív dohányosok rizikója jelentősen nagyobb a korábbi dohányosokénál. Egy kérdőíves felmérés azt is megerősítette, hogy a passzív dohányzás szintén rizikófaktor az EOP-nak (22). Képzelt vizsgálatok alátámasztották, hogy a dohányosok intraorbitális kötőszövetének térfogata nagyobb mértékben növekszik, mint a nem dohányzóké (21). Amellett, hogy a dohányosokban nagyobb eséllyel alakul ki EOP, a dohányzó EOP betegek kevésbé reagálnak az immunosuppresszív kezelésre (6). A Graves-Basedow kór terápiájában alkalmazott ¹³¹I radiojód kezelés szintén emeli az EOP kialakulási valószínűségét (23). A nem megfelelően beállított pajzsmirigy funkció - mind az alul- mind a túlműködés - növeli az EOP kockázatát, valamint súlyosbítja a meglévő orbitopathia lefolyását. A hypothyreosis, különösen radiojód kezelés után, jelentős kockázati tényezőt jelent az EOP kialakulására (24).

Az orbita folyamat krónikus autoimmun gyulladás, mely egyaránt érinti a retrobulbaris kötőszövetet és a külső szemizmokat. A folyamatot sejtes infiltráció kíséri, T lymphocyták, macrophagok és kis részben B lymphocyták infiltrálják az orbitát (25). Az immunfolyamat döntően celluláris mechanizmusú, azonban a folyamat kiváltásáért felelős antigén nem teljesen ismert. Az egyik legelfogadottabb elmélet szerint a TSH receptor és IGF-1 receptor bizonyos kombinációjának együttes expressziója és az ellenük termelt autoantitestek által kiváltott folyamatok felelősek a betegség kialakulásáért (26). Számos egyéb autoantitestet is kimutattak EOP betegek szérumában, mint például a mitokondriális szukcinát dehidrogenáz (27) és calsequestrin (28), vagy a manganáz szuperoxid dismutáz (MnSOD) (29) ellenes antitest. Ezek – az MnSOD kivételével - a külső szemizmokban található fehérjék és valószínűsíthető, hogy a szemizmok EOP miatti másodlagos károsodása során szabadulnak ki a sejtekből, az immunrendszer azokat felismeri és így alakulnak ki az autoantitestek.

Korábbi tanulmányok emelkedett IL-6 szérum szintről számolnak be EOP betegek esetén (30, 31). Az autoimmun folyamat színtere a retrobulbaris kötőszövet, a legfontosabb szerepet játszó sejtek pedig a fibroblastok, melyet szövettani vizsgálatok támasztanak alá (32). A szemizmok érintettsége a később ismertetendő folyamatok következménye (magas ozmotikus nyomás hatására kialakuló oedema okozza a szemizmok megvastagodását). Elektronmikroszkópos vizsgálatok igazolták, hogy a szemizmok izomrostjai intaktak maradnak EOP esetén (33).

A retrobulbaris kötőszövet átalakulása (ún. remodelling) citokin felszabadulás következtében kialakuló fibroblast aktiváció eredménye. Az orbita kötőszövetében található fibroblastok felszínén CD40 expresszió figyelhető meg. Az autoimmun folyamat során CD4+ T lymphocyták infiltrálják az orbita szöveteit. Ezen CD4+ lymphocyták felszínén CD40 ligand (CD40L más néven CD154) található, mely képes a fibroblaston jelen lévő receptorához kötődni. Így alakulnak ki a fibroblastok és T lymphocyták között az ún. CD40-CD154 hidak, melyek hatására a fibroblastok aktiválódnak és fokozott fibroblast proliferáció jön létre (34). Az aktivált fibroblastok különböző citokineket szekretálnak. Az így megemelkedő IL-1 és IL-6 koncentráció pedig hyaluronsav, prosztaglandin E₂ és glükózaminoglikán (GAG) szintézist vált ki a fibroblastokból (35, 36).

Lymphocyták mellett az orbita kötőszöveteinek macrophag infiltrációja is megfigyelhető endokrin orbitopathiában. Egyes macrophag eredetű citokinek, például IL-1 β , TNF- α és IL-10 emelkedett expresszióját detektálták EOP betegek retrobulbaris kötőszövetében (37). A macrophag eredetű citokinek fontos szerepet játszanak az EOP pathogenesisében. Az IL-1 valamint a TNF- α stimulálják az orbita kötőszövetében lévő fibroblastok ICAM-1 expresszióját és így fokozott GAG termelést váltanak ki (38). Az aktivált fibroblastok maguk is T lymphocytá felszaporodást kiváltó kemokineket termelnek, ilyen például a RANTES és az IL-16 (39). Az ennek hatására a gyulladás helyére vándorló T lymphocyták tovább erősítik a retrobulbaris kötőszövetben zajló autoimmun folyamatot. A fibroblastok által termelt kollagén, GAG és hyaluronsav intercellularisan felszaporodik, ezáltal a kötőszövet ozmotikus nyomása megnő és a fokozott vízmegkötőképesség miatt oedema alakul ki (32).

Fentieket összefoglalva tehát az autoimmun gyulladás hatására proliferáló fibroblastok, kötőszöveti alapállomány felszaporodás, és a folyamat következményeként kialakuló oedema együttesen vezetnek a retrobulbaris kötőszövet tömegének növekedéséhez a csontos orbitában, kiváltva az endokrin orbitopathia jellegzetes klinikai megjelenését.

A betegség természetes lefolyása során a retrobulbaris gyulladás fokozatosan megszűnik, az immunológiai aktivitás lecseng és a betegség egy inaktív, fibrotizáló szakba megy át, mely során már valódi autoimmun folyamat a kötőszövetben nem zajlik (6). Az orbita kötőszövetének autoimmun gyulladása jelenti a betegség kezdetét; ekkor általában látványos, manifeszt klinikai tünetek még nincsenek. A klinikai kép a betegség kezdetétől számított 6-24 hónap között a legsúlyosabb (40). Ez után egy plató fázis alakul ki, mely 1-3 évig tart. Öt éves betegségtartam felett a páciensek több mint 90%-ánál az aktív gyulladás megszűnik és kialakul a kötőszövetes átalakulással járó inaktív, ún. „fibrotizáló” szak (4).

Az autoimmun folyamatban szerepet játszó citokinek típusa a betegség eltérő fázisaiban különböző. A kezdeti immunológiailag aktív szakban a T-helper 1 (Th1) citokinek dominálnak, míg a késői, fibrotizáló szakban a T-helper 2 (Th 2) citokinek jelenléte jellemző (41).

2.2. Az endokrin orbitopathia klinikai megjelenése és stádiumbeosztása

Az endokrin orbitopathia kevésbé súlyos formái is jelentősen rontják a páciensek életminőségét, mind fizikai, mind pszichoszociális vonatkozásban (42, 43).

A szemgolyó mögötti nyomó fájdalom az egyik leggyakrabban előforduló panasz az EOP betegek körében. A páciensek körülbelül 30%-a számol be kifejezett fájdalomról (44), mely az életminőséget jelentősen befolyásolja a kérdőíves felmérések szerint (42). A fájdalom gyakran a szemmozgásokkal összefügg, azokra fokozódik, enyhébb esetben nyugalomban nem, csak szemmozgás esetén jelentkezik. A fájdalomért a kötőszövet felszaporodása és az oedema következtében megnövekedett intraorbitalis nyomás, valamint a külső szemizmok következményes érintettsége felelős (4).

A páciensek második leggyakoribb panasza a kettőslátás, melyet az oedemas duzzadt szemizmok funkciózavara, valamint a felszaporodott kötőszövet következtében kialakuló mozgáskorlátozottság okoz. A diagnózis felállításakor a páciensek 17%-ának van diplopiája, ezen páciensek harmada állandó kettőslátásról számol be (44).

Életminőséget befolyásoló panaszok között megemlítendő továbbá a fényérzékenység és könnyezés, mely nem súlyos ugyan, azonban a páciensek mindennapjait megnehezíti; a betegek körülbelül 15%-ára jellemző (44).

A betegek 6%-ánál jelentkezik látásromlás; ritkább esetben a nervus opticus maradandó károsodása okozza, gyakoribb az átmeneti homályos látás, melyért a szemfelszíni szárazság, a könnyfilm egyenetlensége, keratitis punctata superficialis vagy egyéb szaruhártya érintettség lehet felelős (44).

A klinikai jelekért és tünetekért a lokális gyulladás, a vénás stasis és oedema felelős. A megnövekedett orbita volumen következtében a szem járulékos szervein (szemhéjak) és a szem elülső szegmentumában is változások jönnek létre. Jellemző a szemhéjak hyperaemiája és oedemája. A szem elülső szegmentumában létrejön a kötőhártya hyperaemiája, chemosisa, valamint a caruncula duzzanata (45). A betegek körében gyakran megfigyelhető felső szemhéz retrakcióért kezdetben a Graves Basedow kórra jellemző szimpatikus túlsúly felelős (46).

Később a Müller izom hegesen átalakul és a következményes felső szemhéj retrakció állandósul (47), tovább rontva az exophthalmus által okozott szemfelszíni expozíciót.

Az exophthalmus az EOP legismertebb tünete, az EOP betegek 40-70%-ánál jelentkezik. A protrusio a páciensek 80-90%-ában kétoldali, azonban megjelenése aszimmetrikus is lehet (48). Az exophthalmus mérésére az ún. Hertel féle exophthalmometer szolgál, mely a csontos orbita lateralis pereme és a cornea közötti távolságot méri milliméterben. A normál érték rasszonként eltérő, kaukázusiakban 20 mm a felső határ, afro-amerikaiakban magasabb (49), ázsiaiakban pedig alacsonyabb (50). Mivel a protrusio mértéke nagy egyéni változatosságot mutat, lehetőség szerint figyelembe kell venni az adott páciens kiindulási Hertel értékét. Amennyiben ilyen "baseline" érték nem áll rendelkezésre, a populációs átlagtól való 2mm-es eltérést javasolják az exophthalmus diagnózisának felállításához (4).

Szemizom érintettség valamint a szemmozgások korlátozottsága a páciensek 26%-ában figyelgető meg (44). Leggyakrabban az alsó és medialis egyenes szemizom (m. rectus inferior et medialis) érintett (51), de a többi külső szemizom is részt vehet a folyamatban. A szemizmok megvastagodása a proximalis végükön kifejezettebb, ezért súlyos esetekben az izomkúp látóideg körüli térfoglalása a kompressziós opticus neuropathia kialakulásában is jelentős szerepet játszik (52).

Az EOP szövődményei közül megemlítenő a szaruhártya érintettség, a másodlagos zöldhályog (secunder glaucoma) valamint a legsúlyosabb, a látóideg kompressziós károsodása.

A cornealis érintettség a páciensek kb. 10%-ában fordul elő (44) és részben a csökkent könnytermelésnek, részben az exophthalmus okozta szemfelszíni expozíciónak tulajdonítható. Enyhe esetben apró hámhiányok alakulnak ki a szaruhártyán, mely fluorescein festéssel igazolható. Később keratitis punctata superficialis, súlyos esetben szaruhártyafekély (ulcus corneae) alakulhat ki, mely ritkán a cornea perforációjához vezet és akár a szem elvesztését is okozhatja. A súlyosabb cornealis szövődmények többsége a szemfelszín megfelelő nedvesen tartásával (műkönny cseppek és szemgélek használata) elkerülhető (48).

A látóideg érintettség az EOP legsúlyosabb szövődménye. A páciensek mintegy 5%-a szenved valamilyen mértékű nervus opticus károsodást (53). Súlyossága az enyhe, tüneteket nem okozó formától a jelentős látótér károsodással járó, végső esetben vaksághoz vezető látóideg károsodás között változhat. Megfigyelték, hogy olyan EOP betegek esetében is kimutatható latencia csökkenés a vizuális kiváltott válasz (visual evoked potential, VEP) vizsgálat során, akiknél a látóideg károsodás egyéb klinikai jelei (legjobb korrigált

látásélesség csökkenés, színlátás vagy látótér érintettség, papilla nervi optici eltérő megjelenése ophthalmoscopia során) nem észlelhetők (54).

Az EOP súlyosságát leíró kritériumrendszert elsőként Werner és munkatársai foglalták össze 1969-ben, melyet 1977-ben módosítottak. Jelenleg is ez a beosztás (NO SPECS) érvényes az EOP stádiumbeosztására az Amerikai Pajzsmirigy Társaság ajánlása alapján (55) (1.táblázat). Lényegében hasonló célt szolgál az EUGOGO (European Group on Graves' Orbitopathy) kritériumrendszere, mely az EOP betegeket úgy sorolja be súlyosság szerint alcsoportokba, hogy azzal egyben életminőségi és optimális kezelési alcsoportokba kerülnek (56).

Az EOP súlyossági besorolása az EUGOGO szerint:

- **Látáskárosodással fenyegető EOP:** Olyan betegek, akiknél kompressziós opticus neuropathia vagy szaruhártya fekély áll fenn.
- **Súlyos és közepesen súlyos EOP:** Azon betegek, akik nem tartoznak a „látáskárosodással fenyegető” csoportba, de betegségük elég súlyosan befolyásolja az életminőségüket ahhoz, hogy a szükséges kezelés kockázata vállalható. A szükséges kezelés aktív betegség esetén immunosuppresszió, míg inaktív betegség esetén szemészeti műtét. (Az aktív/inaktív betegség fogalmát a dolgozat 2.4. pontja alatt tárgyalom).

Ebbe a csoportba tartozó betegekre általában az alábbi tünetek közül egy vagy több jellemző:

- ◆ 2 mm-nél nagyobb felső szemhéj retrakció
 - ◆ közepes vagy súlyos szemhéj és/vagy kötőhártya érintettség
 - ◆ a populációs átlagot 3 vagy több mm-rel meghaladó exophthalmus
 - ◆ átmeneti vagy tartós kettőslátás
- **Enyhe EOP:** Azon páciensek, akik a fenti csoportokba nem sorolhatók be a betegségük életminőségre való kihatása alapján.

Ebbe a csoportba tartozó betegekre általában az alábbi tünetek közül egy vagy több jellemző:

- ◆ 2 mm-nél kisebb felső szemhéj retrakció
- ◆ enyhe szemhéj és/vagy kötőhártya érintettség
- ◆ a populációs átlagot legfeljebb 2 mm-rel meghaladó exophthalmus
- ◆ enyhe átmeneti kettőslátás vagy a diplopia hiánya

- ◆ topicalis készítménnyel (műkönny szemcsepp, szemgél) egyensúlyban tartható szemfelszíni érintettség

Osztály	Fok	Szemtünetek, panaszok	NO SPECS
		Nincs tünet vagy panasz	No signs
1		Nincs panasz. Tünetek: felső szemhéj retrakció, lassú pillacsapás és/vagy proptosis nélkül	Only signs
2		Lágyrészérintettség panaszokkal és tünetekkel	Soft tissue changes
	0	nincs	
	a	kisfokú	
	b	közepes	
	c	súlyos	
3		A normál értéket legalább 3mm-rel meghaladó proptosis panaszokkal vagy anélkül	Proptosis
	0	nincs	
	a	3-4 mm	
	b	5-7 mm	
	c	8 vagy több mm	
4		Külső szemizom érintettsége	Extraocular muscle changes
	0	nincs	
	a	szemmozgás korlátozottsága csak oldal irányú tekintéskor	
	b	jól látható szemmozgászavar	
	c	fixált szemgolyó	
5		Szaruhártya érintettség	Corneal involvement
	0	nincs	
	a	pontozott festődés	
	b	cornea ulcer	
	c	borús, necrotisalt, perforalt cornea	
6		Látásvesztés (opticus érintettség miatt)	Sight Loss
	0	nincs	
	a	sápadt papilla, látótér beszűkülés, visus 20/20-20/60	
	b	sápadt papilla, látótér beszűkülés, visus 20/70-20/200	
	c	visus rosszabb mint 20/200, fényérzés, fényérzés nincs	

1. Táblázat Szemtünetek klasszifikációja endokrin orbitopathiában – NO SPECS osztályozás az Amerikai Pajzsmirigy Társaság ajánlása szerint (55)

Mind az ATA klasszifikáció, mind az EUGOGO kritériumrendszer az EOP súlyosságát írja le, és nem, vagy csak korlátozottan alkalmas az autoimmun folyamat súlyosságának, aktivitásának megítélésére. Szélsőséges esetben súlyos EOP esetén az autoimmun folyamat inaktív is lehet, máskor enyhe tünetek és alig észlelhető fizikális jelek mellett jelentős aktivitás állhat fenn. Az autoimmun folyamat aktivitásának jellemzését a 2.4 fejezetben tárgyalom.

2.3. Az endokrin orbitopathia kezelésének irányelvei

Az endokrin orbitopathia korszerű kezelésében jelenleg az EUGOGO (European Group on Graves' Orbitopathy) konszenzus nyilatkozata az irányadó (56).

Az endokrin orbitopathia EUGOGO által ajánlott kezelési algoritmus az 1. ábrán látható.

2.3.1. Az endokrin orbitopathia immunoszuppresszív kezelése

Az endokrin orbitopathia immunoszuppresszív kezelésének a mindennapi klinikai gyakorlatban használt eszközei a corticosteroid terápia és a retrobulbaris irradiáció. A jövő lehetőségeit jelentő kezelések, mint a biológiai terápia (például rituximab vagy etanercept) jelenleg klinikai vizsgálatok tárgyát képezik (57-59) ezért ezeket részletesebben nem tárgyalom.

2.3.1.1. Corticosteroid kezelés

Az endokrin orbitopathia corticosteroid kezelése az immunoszuppresszív terápia leggyakrabban alkalmazott formája. Szisztémás és lokális beviteli módja is ismert. EOP esetén a retrobulbaris vagy subconjunctivalis injekcióval bejuttatott steroid kevésbé bizonyult hatékonynak a szisztémás kezeléshez képest (60), ezért a mindennapi gyakorlatban az EOP kezelésére nem használjuk. Szisztémás terápia esetén az intravénásan adott steroid hatékonyabbnak bizonyult a per os adott kezelésnél (a hatékonysági ráta az előző esetben 80%, az utóbbiban 50%) (61). A különböző intravénás kezelési sémák egyikének preferálására sincs jelenleg elegendő evidencia, de az 1-6 napos szünetekkel adott pulzatis kezelés esetén kevesebb a mellékhatás változatlan hatékonyság mellett. A nemzetközi ajánlás 8 gramm éves kumulatív parenterális dózsig biztonságosnak tartja a corticosteroidok adását, legalábbis a legveszélyesebb mellékhatás, a potenciálisan fatális hepatotoxicitás vonatkozásában. (56). Klinikai gyakorlatunkban az alábbi pulzatis kezelési séma szerepel a protokollban: Kezdetben heti 500mg, majd heti 250mg iv. methylprednisolon 4-8 héten át, majd hetente két alkalommal 64 mg tablettában, fokozatosan csökkentve a még hatásos fenntartó adagra, melyet 3-12 hónapig alkalmazunk. Az adott beteg általános állapota és kísérőbetegségei szükségessé tehetik az ettől való eltérést.

2.3.1.2. Retrobulbaris irradiáció

A retrobulbaris irradiáció az endokrin orbitopathia második vonalbeli immunosuppresszív kezelési lehetősége. Különösen eredményesen alkalmazható a szemmozgás korlátozottsággal vagy kettőslátással járó esetekben (62). A kezelés szokásos dózisa 10 alkalommal 2 Gy frakcionált leadása (63). A corticosteroid és retrobulbaris irradiációs kezelés kombinációja igazoltan hatékonyabb, mint a két terápia külön-külön (64). A kezelés lehetséges mellékhatásai között meg kell említenünk a szürkehályog korábbi kialakulását, azonban ez szemészeti mikrosebészeti eljárással rutinszerűen és jól gyógyítható. Súlyosabb és nehezebben kezelhető mellékhatás a retina microvascularis károsodása, a radiogén retinopathia. Kialakulása relatíve ritka, azonban a kezeletlen súlyos hypertonia és a meglévő diabeteses retinopathia jelentősen növelik a kockázatát (65), így ezek a kórállapotok a retrobulbaris irradiációs kezelés abszolút kontraindikációját képezik. A szemszövődmény nélküli diabetes mellitusról, mint kockázati tényezőről jelenleg nincsen elegendő evidencia, ezért azt a kezelés relatív kontraindikációjának tekintik (56).

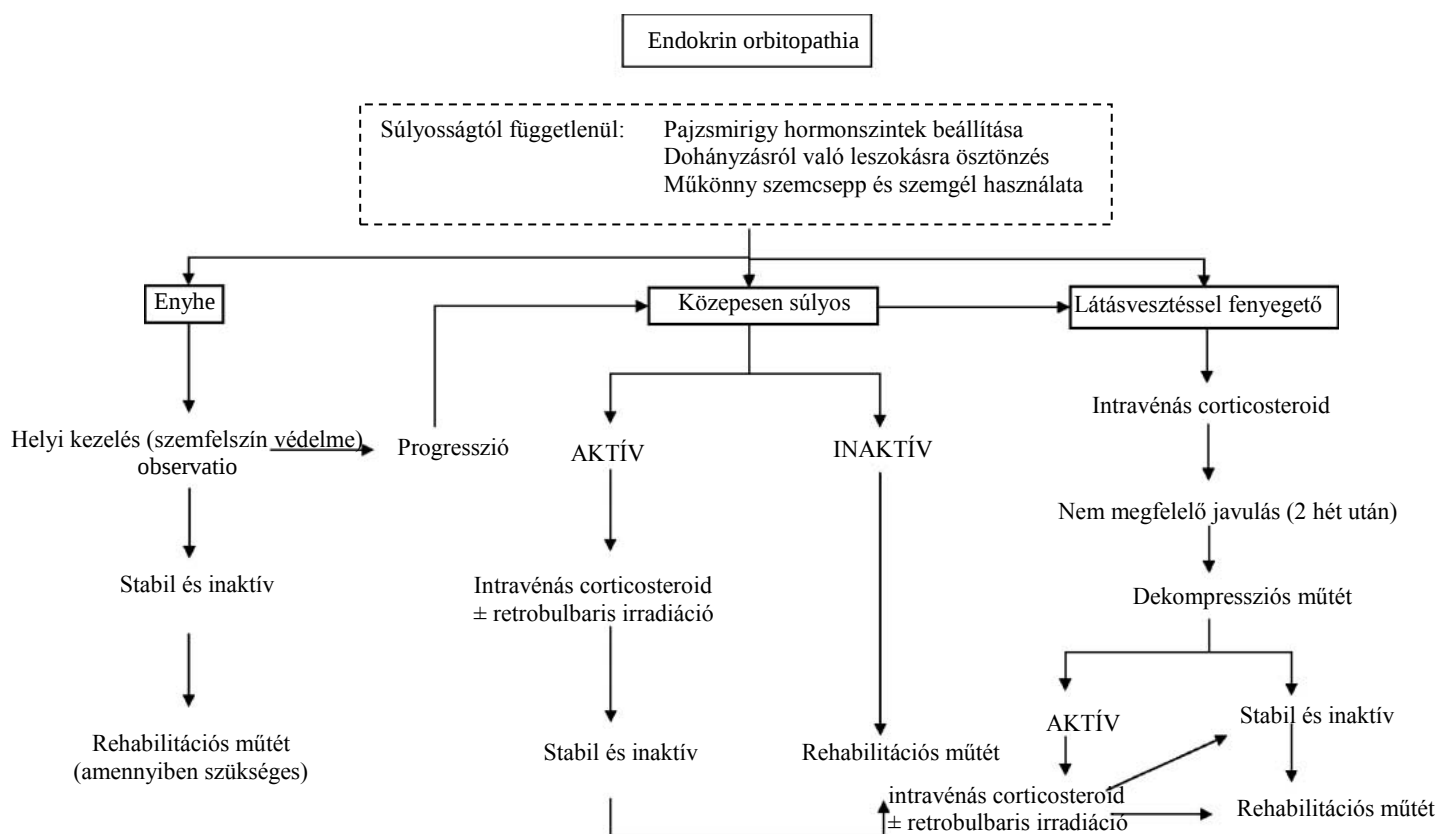
2.3.2. Az endokrin orbitopathia szemészeti kezelése

Minden EOP beteg esetén, stádiumtól és aktivitástól függetlenül fontos hangsúlyt helyezni a szemfelszín védelmére. Az endokrin orbitopathia együtt jár ún. „száraz szem” betegséggel. Ennek oka részben a könnymirigy érintettsége kapcsán kialakuló csökkent könnytermelés (tear deficient dry eye), részben pedig az exophthalmus miatti fokozott könnypárolgás (evaporative dry eye) (66, 67). A topicalisan alkalmazandó szemnedvesítő műkönyy szemcseppek és szemgélek használata minden EOP beteg számára feltétlenül javasolt. A szemfelszín védelmével megóvhatjuk a szaruhártyát a kiszáradástól, hámsérülések keletkezésétől, melyek súlyos esetben cornea ulcus, végső esetben perforatio kialakulásához vezethetnek. Enyhe esetben a szemfelszín megfelelő lubrikációja jelentősen csökkenti a páciensek szubjektív panaszait (szemszárazságból adódó diszkomfort, szűrő fájdalom, átmeneti homályos látás), javítva ezzel életminőségüket.

A további szemészeti kezelések vonatkozásában általános érvényű, hogy a műtéti beavatkozások elvégzése az EOP immunológiailag inaktív szakában javasolt. A régóta fennálló inaktív betegség önmagában nem jelent ellenjavallatot a rehabilitációs műtétek elvégzésére (68). Kivételt képez és aktív szakban is műtéti indikációt jelent a látást fenyegető látóideg kompresszió, a nemzetközi ajánlás azonban ebben az esetben is az intravénás nagy

dózisú corticosteroid kezelést javasolja elsőként választandónak (69). Abban az esetben javasolt a dekompresziós műtét, ha a steroid kezelésre adott válasz két hét után sem megfelelő (56). (1. ábra)

Az inaktív szakban elvégezhető beavatkozások közé tartozik az orbita dekompresziós műtete (csonteltávolítással vagy lipectomiával) melynek célja a nagyfokú protrusio csökkentése, különösen olyan esetekben, amikor a szemhéjzárási nehezítettség miatt a szaruhártya védelme helyi készítményekkel nem oldható meg (70). A fibrotizáló szakban is fennálló diplopia korrekciójára a szemizmok sebészi áthelyezése, a szemhéj állási és zárási rendellenességének megoldására a szemhéjak plasztikája javasolt. Fontos megemlíteni, hogy a beavatkozások tervezésénél a műtétek alábbi sorrendje ajánlott: elsőként végzendő az orbita dekompreszió (amennyiben szükséges), következőként a szemizmokon végzett beavatkozás és utolsóként kerüljön sor a szemhéjak korrekciójára (56). Ellenkező esetben például egy korábban végzett szemizom műtét eredményét a későbbi orbita lipectomia negatívan befolyásolhatja.



1. ábra Az endokrin orbitopathia kezelésének folyamatábrája az European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) ajánlása szerint (56)

2.4. Az immunológiai aktivitás szerepe a kezelési stratégia megválasztásában

Az endokrin orbitopathia kezelése során elsőként azt kell eldönteni, hogy az adott beteg melyik súlyossági csoportba tartozik. Az erre vonatkozó EUGOGO irányelveket fent részleteztem (1. ábra). Az enyhe és látást fenyegető EOP ritkább, a páciensek nagy része a „közepesen súlyos EOP” kategóriába tartozik (10). Az 1. ábrából szintén kitűnik, hogy ezen betegeknél a kezelési stratégia megválasztásához elengedhetetlen a folyamat immunológiai aktivitásának megítélése.

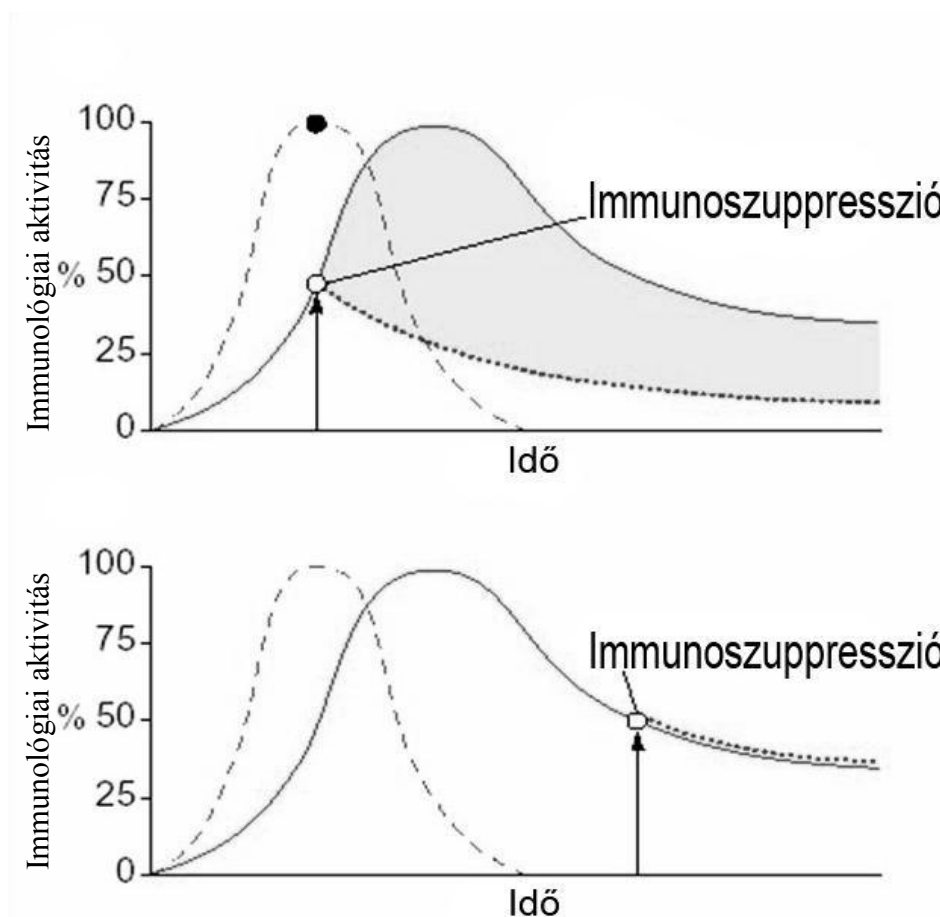
A betegség természetes lefolyását korábban ismertettük. Az EOP ún. immunológiailag aktív szakát (továbbiakban: aktív EOP) az orbita kötőszövetének autoimmun gyulladása jelenti. Ekkor zajlanak a retrobulbaris térben a 2.1 pontban ismertetett folyamatok. A legtöbbször ekkor még valódi klinikai tünetek nincsenek, vagy annyira enyhék, hogy azokat céltartan keresni kell. A klinikai jelek és tünetek a betegség kezdetétől számított 6-24 hónapot követően a legintenzívebbek (40). Ez után egy plató fázis alakul ki, mely 1-3 évig tart. 5 éves betegségtartam felett a páciensek nagy részénél az aktív gyulladás megszűnik és kialakul a kötőszövetes átalakulással járó immunológiailag inaktív szak (továbbiakban: inaktív EOP) (4). Ekkorra az immunológiai aktivitás lecseng, és a betegség fibrotizáló szakba megy át. Ilyenkor már valódi autoimmun folyamat a kötőszövetben nem zajlik, a szövetekre a következményes hegesedés jellemző (6). A betegek nagy részének azonban ilyenkor még fennállnak, sőt súlyosbodhatnak is a panaszai, klinikai tünetei kifejezettebbé válhatnak. Ezek alapján egyértelmű, hogy az EOP súlyossága és aktivitása nem szinonim fogalmak (6).

Mivel az autoimmun folyamat kialakulása időben megelőzi a klinikai tünetek megjelenését, ezért a klinikai kép és az orbita kötőszövetében zajló autoimmun gyulladás egymástól időben elkülönül. A súlyosság mellett külön vizsgálni kell azt is, hogy az EOP aktív-e. A betegség kezdetén enyhe tünetek és alig észlelhető fizikális jelek (pl. enyhe conjunctiva hyperaemia és szemhéjoedema, kissé tágabb szemrés) mellett igen aktív lehet a retrobulbaris autoimmun folyamat, míg súlyos szemtünetek (pl. extrém proptosis, cornealis érintettség, a beteg életminőségét jelentősen rontó kettőslátás) esetén is előfordulhat immunológiailag inaktív, fibrotizáló folyamat.

Az endokrin orbitopathia aktivitásának és klinikai tüneteinek időbeli eltérését elsőként Rundle írta le 1960-ban (40). Az általa szerkesztett ábra (Rundle curve) napjainkig használt a folyamat szemléltetésére (2. ábra). Az ábrán a szaggatott vonal mutatja a betegség immunológiai aktivitását, a folyamatos vonal pedig a szemtünetek jelentkezését és súlyosságának változását az idő függvényében. A felső képen látható, hogy az aktív szakban

adott immunosuppresszív kezelés hatásos, a súlyos klinikai tünetek kialakulását – melyek ekkor még nem vagy alig manifesztálódnak – optimális esetben meg is előzheti. Az alsó ábrán látható, hogy heves tünetek észlelése mellett a valódi immunológiai aktivitás már lezajlott, az ekkor alkalmazott immunosuppresszív kezelés már nem hatékony, a betegség a természetes lefolyását követi (2. ábra). Az inaktív szakban végzett immunosuppresszív kezelés feleslegesen teszi ki a pácienseket a mellékhatások kockázatának (1. 2.3.2 fejezetet).

Összefoglalva endokrin orbitopathiában a terápiaválasztás kulcskérdése a folyamat immunológiai aktivitásának megítélése, mivel az immunosuppresszív kezelés csak aktív szakban hatásos, míg tervezett kozmetikai illetve funkcionális rehabilitációs műtéti beavatkozások elvégzése csak inaktív szakban javasolt.



2. ábra Időbeli eltolódás az immunológiai aktivitás és a szemtünetek kialakulása közt endokrin orbitopathiában (Rundle curve)

Az ábra forrása Rundle és Hales 1960-ban írt tanulmánya (40). Szaggatott vonal jelzi az immunológiai aktivitás, folyamatos vonal a szemtünetek klinikai megjelenését. Részletes magyarázat a szövegben.

2.5. Az EOP immunológiai aktivitásának megítélésére használt módszerek

Az endokrin orbitopathia aktivitásának megítélésére számos eljárás ismert. A lehetséges módszerek között szerepel anamnézisen és fizikális vizsgálaton alapuló pontrendszer, laboratóriumi vizsgálat és többféle képalkotó eljárás.

2.5.1. A Clinical Activity Score

A Clinical Activity Score (CAS) kifejlesztése és első leírása Mourits nevéhez fűződik (71). A CAS az öt klasszikus gyulladásos jel közül négy (fájdalom, duzzanat, vörösség, funkciókárosodás) szemészeti tünetei alapján meghatározott pontrendszer (2. táblázat). Felvétele során szemenként meghatározzuk, hogy a vizsgált tíz pontból mennyi teljesül, ezeket összeadva határozzuk meg a CAS pontértékét. Ha a CAS érték 4 vagy nagyobb, ez immunológiailag aktív betegségre utal (71).

1	szem mögötti nyomó fájdalom az elmúlt 4 hétben	Fájdalom
2	tekintéskor fellépő fájdalom az elmúlt négy hétben	
3	szemhéjak vörössége	Vörösség
4	conjunctiva hyperaemia (legalább egy kvadránst érint)	
5	szemhéjak oedemája	Duzzanat
6	chemosis	
7	caruncula duzzanata	
8	proptosis fokozódása (≥ 2 mm) az elmúlt 1-3 hónapban	
9	szemizommozgás beszűkülése bármely irányba ($\geq 5^\circ$) az elmúlt 1-3 hónapban	Funkciókárosodás
10	viszcsökkenés ($\geq 0,1$, stenoplyukat használva) az elmúlt 1-3 hónapban	

2.táblázat A Clinical Activity Score meghatározása

A vizsgálat a klinikai gyakorlatban széles körben elterjedt és használt, de szubjektív volta miatt reprodukálhatósága megkérdőjelezhető. Elgondolkodtató, hogy a tíz vizsgált pontból öt a szemhéjak illetve az elülső szegmentum állapotából következtet az autoimmun folyamat valódi helyének, a retrobulbaris kötőszövetnek az állapotára, további kettő pedig a páciens szubjektív panaszain alapul. Így előfordulhat, hogy bizonyos inaktív esetekben, amikor a visszamaradó exophthalmus és ennek következtében az elülső szegmentum érintettsége (pl. conjunctivalis hyperaemia, mérsékelt chemosis) illetve a szemgolyó

mozgásának korlátozottsága és a következményes szubjektív tünetek (nyomódás, felfelé tekintési nehezítettség) hatására CAS felvételével 4 feletti értéket kapunk ezzel, „felülbecsülhetjük” a betegség aktivitását.

A pontrendszer felvételéhez a páciens korábbi szemészeti statusának ismerete is szükséges (a 8-9-10. pontok időbeli változásának megítéléséhez, 2. táblázat), frissen felfedezett betegség esetén ez többnyire nem áll rendelkezésre. A módszer e hátrányának kiküszöbölésére szolgál, hogy az újabb ajánlások csak az első 7 pont vizsgálatát javasolják. Ez a módosított, 7 pontból álló CAS három vagy több pont teljesülése esetén utal az EOP aktivitására (72).

2.5.2. Laboratóriumi vizsgálatok

Kahaly és munkatársai számoltak be a szérum és vizelet glükózaminoglikán (GAG) szintjének megemelkedéséről, mely immunosuppresszív kezelés hatására csökkenő tendenciát mutat (73). Mérése azonban csak kutatási célból alkalmazott, a klinikai gyakorlatban nem terjedt el.

Ismert, hogy EOP esetén szérum IL-6 szintje megemelkedik (74), azonban aktivitás meghatározására a klinikai gyakorlatban nem bizonyult alkalmasnak (75).

Jelenleg nem áll rendelkezésre olyan laboratóriumi paraméter, melynek vizsgálatával egyértelmű választ kapnánk az endokrin orbitopathia aktivitásának vagy inaktivitásának kérdésére.

2.5.3. Képalkotó vizsgálatok

A képalkotó eljárások közül az orbita mágneses rezonancia (MR) vizsgálata terjedte el leginkább az EOP aktivitásának megítélésére. Aktivitás esetén a szemizmokon mért T2 relaxációs idő megnyúlik, és hatékony immunosuppresszív kezelés esetén rövidülés következik be ebben a paraméterben (76). A módszerrel az érintett izmok térfogata pontosan mérhető (77), az izmokban zajló gyulladás jól megítélhető. Azonban a retrobulbaris zsírszövetről, mely az autoimmun folyamat valódi színtere, nem ad kellő információt. Megemlítendő, hogy az MR nem magát a gyulladást, hanem a következményes oedemát mutatja ki (6). Aktivitás megítélés mellett azonban az MR vizsgálat előnye, hogy pontos

információt szolgáltat az orbita anatómiai viszonyairól, így egy dekompressziós műtét tervezésénél elvégzése feltétlenül szükséges és indokolt (78).

A szemizmok reflektivitásának mérése ultrahang A mód segítségével elméletben szintén használható eljárás az EOP aktivitásának megítélésére. Aktív EOP esetén a szemizmok reflektivitása alacsonyabb (79). Hátránya, hogy szintén csak az izmokban zajló gyulladás megítélésére alkalmas és a fentiekhez hasonlóan, a mért alacsony reflektivitás az oedema következménye. Az MR és ultrahang alkalmazhatóságát összehasonlítva, egyértelműen az MR vizsgálat bizonyult hatékonyabbnak a szemizom érintettség megítélésére (51).

2.5.4. A nukleáris medicina technikáinak alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében

Az izotópdiagnosztikai technikák közül elsőként Postema és munkatársai számoltak be az ^{111}In -octreotide scintigraphia alkalmazhatóságáról (80). A leképzés elve, hogy a radiofarmakon a gyulladás helyszínére vándorló lymphocyták szomatosztatin receptorához kötődik. Így a gyulladás helyszínén izotópdúsulás jön létre, mely detektálható. Az Octreoscan néven is ismert eljárás egyik hátránya, ami széles körű elterjedését is megakadályozta, a magas költsége (81). A módszer előnye, hogy működési elvéből eredően pontosan megjelöli a gyulladt szöveteket, magáról az autoimmun folyamat meglétéről vagy hiányáról ad információt. Hátrányai közt említik, hogy a leképzett területről anatómiai képet nem szolgáltat illetve a páciensek sugárterhelése is megfontolandó szempont (78). Korábban több radiofarmakkal (pl. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ poliklonális humán immungolbulin G (HIG) (82), $^{99\text{m}}\text{Tc}$ P829 (83), gallium 67 citrát (84), $^{99\text{m}}\text{Tc}$ HYNIC Octreotide (85), $^{99\text{m}}\text{Tc}$ dimerkaptoszukcinát (DMSA) (86)) végeztek kis esetszámú vizsgálatot az EOP aktivitásának megítélésére. Általánosságban elmondható, hogy a kezdeti eredmények pozitívak voltak, ám egyik eljárás sem vált elterjedté.

A $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA (dietilén triamin pentaacetát) SPECT ezen a területen történő alkalmazhatósága már korábban is felmerült (87). A $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA komplex egy 492 Da súlyú molekula, mely intravénás bejuttatás után - méretéből adódóan - a megnövekedett kapilláris permeabilitással rendelkező érszakaszon extravasálódik, míg normál érfal ill. kapilláris szerkezet esetén lumenen belül marad (88). Azokon a területeken, ahol gyulladás zajlik, mindig számolnunk kell a kapillárisok permeabilitásának növekedésével, így a $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA

extravasatiojával. Az érpályából kijutó radiofarmakon az intersticiális folyadék polypeptidjeihez kötődve „megjelöli” az aktív gyulladás helyét. A ^{99m}Tc -DTPA dúsulása az inflammatio helyén SPECT módszerrel detektálható. Az Octreoscan és DTPA SPECT vizsgálatot összevetve a mérési eredmények egymással jól korreláltak, ám az utóbbi lényegesen költséghatékonyabb eljárás (89).

2.6. A szemfelszínen és könnymirigyben lezajló változások endokrin orbitopathiában

Az endokrin orbitopathiához társuló szemfelszíni változások több évtizede képezik kutatás tárgyát. A betegséghez társuló száraz szem háttere a könnymirigy érintettsége kapcsán kialakuló csökkent könnytermelés (tear deficient dry eye), illetve az exophthalmus miatti fokozott könnypárolgás (evaporative dry eye) (53, 54)

Gilbard és munkatársai figyelték meg elsőként 1983-ban, hogy az EOP betegek könnyének ozmolaritása megnő és az szemfelszíni változásokat okoz (67). A könnyfilm profiljának megváltozása a könnyfilm felszakadási idő (break up time, BUT) csökkenését okozza (66). A szemfelszíni szárazság a cornea epithel sejtjeinek károsodásával jár, mely Rose Bengal vagy lisszamin zöld festéssel kimutatható a súlyosan száraz szemű EOP betegek esetén (66). A conjunctiván és corneán, illetve könnyfilmben lezajló változásokra hívják fel a figyelmet Cavusoglu és munkatársai; az előbb felsorolt módszereken kívül (BUT, Schirmer teszt, Rose Bengal festődés) impressziós citológiával is igazolták a szemfelszín érintettségét (90).

A könny fehérje összetételének megváltozását EOP esetén elsőként Khalil és munkatársai írták le. Nagy teljesítményű folyadékkromatográfia (high performance liquid chromatography, HPLC) segítségével kimutatták, hogy a normál könnyre jellemző öt protein csúcs közül EOP esetén több szignifikánsan megemelkedik a kontrollokhoz képest. A jelenség hátterében az EOP könnymirigyre kifejtett hatását feltételezték (91). Proteomikai vizsgálatok is alátámasztották a könny fehérje összetételében bekövetkező változásokat. Megfigyelték, hogy a 3000 és 20 000 Da közötti súlyú fehérjék körében több fehérje szintje csökken, míg másoké jelentősen megemelkedik az egészségesek könnyfehérjeihez képest. Ezen biomerek pontos azonosítása azonban még a jövő kutatásainak feladata (92).

A könnymirigy érintettségét endokrin orbitopathiában több megfigyelés is alátámasztja. A könnymirigy megnagyobbodását a páciensek 22%-ában igazolták computer tomographiás (CT) vizsgálat során (93). A könnymirigy acinus sejtjei TSH receptort expresszálnak. A Graves-Basedow kórban megjelenő autoantitestek (TSH receptor elleni

antitest, TRAb) a könnymirigyben is kötődnek a TSH receptorhoz, mely pathológiás jelátviteli útvonalak beindulását váltja ki, így vezetve a könnymirigy autoimmun károsodásához **(94)**. A pajzsmirigyhormonok (trijód-tironin: T3, tiroxin: T4) könnymirigyre kifejtett direkt hatása is ismert, mind a könnymirigy szerkezetét, mind működését befolyásolják. Alulműködés esetén a mirigy mérete és a termelt könny mennyisége is csökken. Állatkísérletekkel igazolták, hogy hypothyreosis hatására a könnymirigy acinus sejtjeinek TSH receptor expressziója fokozódik (up regulatio), a folyamat szövet- és hormon specifikus **(95)**. A könnymirigy valódi gyulladását jelentő lymphocita infiltrációt octreotid scintigraphias (Octeroscan, részletesen a 2.5.4. pontban) vizsgálatok támasztják alá **(96, 97)**.

3. Célkitűzések

3.1. A ^{99m}Tc -DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében

A vizsgálat tervezésekor az alábbi célokat tűztük ki:

- I. A ^{99m}Tc -DTPA SPECT alkalmazhatóságának igazolása az immunosuppresszív kezelés hatásosságának előrejelzésére endokrin orbitopathiában
- II. ^{99m}Tc -DTPA SPECT vizsgálat során mért felvett aktivitás egészséges orbitára vonatkozó normál értékének meghatározása
- III. Azon változás mértékének meghatározása ^{99m}Tc -DTPA SPECT-tel végzett követés esetén, mely a folyamat szempontjából valódi javulásnak tekinthető, nem pedig biológiai fluktuációból ered
- IV. A ^{99m}Tc -DTPA SPECT felvett aktivitás gyakorlatban használható határértéknek a meghatározása, mely felett az EOP nagy valószínűséggel aktívnak tekinthető és corticosteroid kezelés várhatóan hatásos lesz

3.2. A könny citokin-, kemokin- és PAI-1- tartalmának meghatározása EOP és Graves-Basedow kór esetén

- I. A betegség pathogenesisében szerepet játszó citokinek, kemokinek, valamint a plazminogén aktivátor inhibitor-I (PAI-1) könnyből történő meghatározásával az esetleges különbség vizsgálata EOP-ban, valamint EOP-val nem kísért Graves-Basedow kórban szenvedő betegekben
- II. A könnytermelés és könny citokin egyensúly közötti összefüggés vizsgálata EOP esetén
- III. A dohányzás, mint rizikófaktor hatásának vizsgálata a könny citokin összetételére EOP esetén illetve EOP-val nem kísért Graves-Basedow kórban
- IV. Összefüggés feltárása a könnyfilm citokin profiljának megváltozása és a betegség immunológiai aktivitása között

4. Betegadatok és módszerek

Vizsgálatainkban a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemklinikáján valamint a Belgyógyászati Intézet Endokrinológiai Tanszék endokrin szakrendelésén megjelent betegek vettek részt. A betegek kiválasztása az aktuális szakmai irányelveknek megfelelően történt. A kontroll személyek beválogatása során minden olyan szemészeti vagy belgyógyászati kórállapotot kizártunk, melyek vizsgálatainkat bizonyítottan vagy feltételezhetően befolyásolhatták volna. Tanulmányainkat a Debreceni Egyetem Orvos és Egészségtudományi Centrum Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottsága hagyta jóvá, azokat a Helsinki Deklaráció normáinak megfelelően végeztük, a betegek tájékoztatott beleegyezésével.

4.1. A ^{99m}Tc -DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében

4.1.1. Betegcsoportok

Ötvenhét EOP-ban szenvedő beteg 114 orbitáját vizsgáltuk (44 nő, 13 férfi, átlagéletkor 52.74 ± 10.70 év).

A kontroll csoportot 17 beteg (13 nő, 4 férfi, átlagéletkor 48.12 ± 11.99 év) 34 orbitája alkotta. Valamennyien primer Raynaud syndroma miatt, alkar-kéz microcapillaris keringés meghatározása céljából estek át ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálaton, szemészeti és endokrinológiai szempontból egészségesek voltak. További kizárási kritérium volt a kórelőzményben szereplő sinusitis illetve rhinitis allergica, mivel a SPECT vizsgálat felbontóképességéből adódóan a ROI jelölésénél nem tudjuk pontosan körberajzolni az orbitát és a paranasalis sinusokban esetlegesen zajló gyulladás átfedhet az orbita területében lévő ROI-val, álpozitív eredményhez vezetve.

4.1.2. Szemészeti és belgyógyászati vizsgálatok és terápia

Az EOP betegek mindegyike igazolt Graves-Basedow kórban szenvedett, és a vizsgálat idején hormonálisan euthyreoid volt vagy legfeljebb szubklinikus hyperthyreosis állt fenn. A páciensek részletes szemészeti vizsgálaton estek át (visusvizsgálat, réslámpás vizsgálat, ophthalmoscopia, szemnyomásmérés, Hertel érték meghatározás), mindenkinél

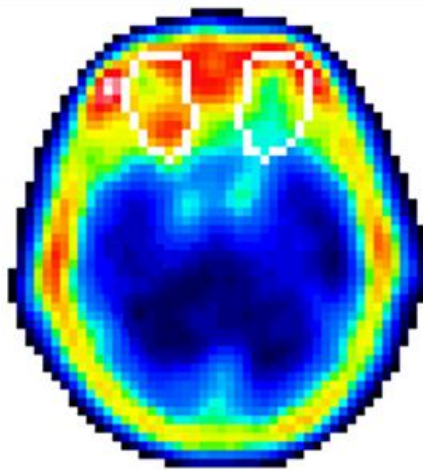
meghatároztunk a Clinical Activity Score-t (CAS) és csak a klinikai vizsgálat alapján aktívnek ($CAS \geq 4$) bizonyult betegeket vontuk be a vizsgálatba. Minden páciens a jelenleg elfogadott protokoll szerint intravénás corticosteroid kezelésben részesült, az átlagos kumulatív steroid dózisa 3193 ± 2175 mg volt. A corticosteroid kezelés mellett, 11 páciens kiegészítő retrobulbaris irradiációt is kapott 10×2 Gy dózisban.

4.1.3. ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálat és követési idő

SPECT vizsgálat során $400\text{--}430$ MBq ^{99m}Tc jelzett DTPA izotópot (PromtCarry, Szeged, Magyarország) adtunk be a betegnek intravénásan, majd a beadás után 20 perccel 4 fejes Nucline Xring/4R készülékkel (Mediso, Budapest, Magyarország) összesen 128 vetületi képet detektáltunk. A metszeti képek vizuális értékelése mellett a tranzverzális szeleten az orbita régióját magába foglaló területeken, mind jobb és bal oldalon ún. ROI-kat (region of interest) rajzoltunk. Annak érdekében, hogy a teljes orbita területében végezzük a mérést, 6 egymást követő szeleten végeztük el ugyanezt a kijelölést, így egy 6×2.6 mm vastagságú térbeli ROI-t kapva. Ezekben kiszámoltuk az ún. „felvett aktivitás” értéket.

A DTPA felvett aktivitás érték számításához a SPECT készüléket előzetesen kalibráltuk. A fecskendőben az intravénás beadás előtti és utáni izotóp aktivitást detektáltuk, továbbá a beadás időpontját is feljegyeztük annak érdekében, hogy az izotóp bomlásával is korrigáljunk. DTPA felvett aktivitásnak nevezzük azt az aktivitás értéket, melyet a korábban ismertetett ROI-ban a szövet, jelen esetben az orbita területe felvesz a beinjektált radiofarmakon mért és számított aktivitásából (MBq/cm^3).

Ezzel a módszerrel képi és numerikus információt is nyerünk az orbitákról (3. ábra).



3.ábra ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálat az endokrin orbitopathia aktivitásának megítélése céljából.

Az orbita régióját magába foglaló metszeteket, az ún. ROI-kat (region of interest) fehér körvonal jelzi. A képen látható beteg DTPA felvett aktivitás érték 13.8 MBq/cm^3 (jobb orbita) és 7.2 MBq/cm^3 (bal orbita), aszimmetrikus, kifejezett jobb oldali aktivitásra utal, a bal oldal inaktív.

Minden EOP beteg esetén két alkalommal végeztünk ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálatot, elsőként az immunosuppresszív kezelés megkezdése előtt, majd a kezelés befejezése után 2-9 (átlagosan 5.07 ± 2.37) hónappal.

A kontroll csoportban a páciensek Raynaud syndroma miatt, alkar-kéz microcapillaris keringés meghatározása céljából estek át ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálaton, szemészeti és endokrinológiai szempontból egészségesek voltak. Ezen betegek SPECT vizsgálata során az orbita régiójáról is készítettünk vetületi képeket a fent részletezett módszerrel. A kontrollcsoport betegein egy alkalommal végeztünk SPECT vizsgálatot.

4.1.4. Speciális számítások és statisztikai feldolgozás

A kontrollcsoportot alkotó 34 orbita felvett aktivitás értékének 95. percentilisét tekintettük a normál orbita DTPA felvett aktivitás értékének.

A betegcsoportban a kiindulási és kezelés utáni felvett aktivitás és CAS értékeket Student féle párosított t próbával vizsgáltuk.

EOP betegek esetén a kiindulási és immunosuppresszív kezelés utáni DTPA felvett aktivitás érték különbségéből egy származtatott ún. delta értéket számítottunk, további elemzéseinkhez ezt használtuk ($\Delta \text{ DTPA} = \text{kezelés előtti DTPA} - \text{kezelés utáni DTPA}$).

Pozitív Δ DTPA a kezelés hatására bekövetkező javulásra utalt, míg változatlan vagy negatív Δ DTPA esetén a folyamat immunológiai aktivitása nem változott.

Annak érdekében, hogy megvizsgáljuk a kiindulási érték (előtte DTPA) és az immunosuppresszív kezelés hatására bekövetkező változás (Δ DTPA) összefüggését, meghatároztuk a két érték közötti korrelációt. Mivel biológiai rendszerekben mindig számolnunk kell egy véletlenszerű fluktuációval, fontosnak tartottuk meghatározni a változás azon mértékét (Δ DTPA) amit valódi javulásnak tartunk.

Lineáris regressziós analízist végeztünk a kezelés előtti DTPA és Δ DTPA értékeken. A kapott regressziós egyenletbe helyettesítettük a kontrollcsoportunk értékei alapján meghatározott normál orbita DTPA felvett aktivitás értékét (95. percentilis). Így megkaptuk azt a Δ DTPA értéket, mely feletti változást valódi eltérésnek tartottunk, nem pedig a biológiai rendszerből adódó bizonytalanságnak.

Hasonlóan végeztünk korreláció számításokat a CAS vs. Δ CAS, valamint a CAS és Δ DTPA vonatkozásában.

Statisztikai elemzés során Kolmogorov-Smirnov tesztet, Student féle párosított t próbát, Spearman féle korrelációt és lineáris regressziós analízist alkalmaztunk, számításainkhoz a SAS for Windows 8.2 szoftvert használtuk. Az eredményt $p < 0.05$ esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

4.2. A könny citokin-, kemokin- és PAI-1- tartalmának meghatározása aktív EOP, inaktív EOP és Graves-Basedow kór esetén

4.2.1. Betegcsoportok

Az EOP csoportot 27 beteg 54 szeme (21 nő, 6 férfi, átlagéletkor 43.4 ± 15.2 év), a GB betegcsoportot 9 beteg 18 szeme (8 nő, 1 férfi, átlagéletkor 46.8 ± 11.7 év), a kontrollcsoportot (C) 12 egészséges alany 24 szeme (7 nő, 5 férfi, átlagéletkor 38.6 ± 13.8 év) alkotta. Egyik alany egyik szeménél sem valósult meg kizárási kritérium, ezért minden esetben mindkét szemből történt mintavétel.

4.2.2. Szemészeti és endokrin vizsgálatok

Minden páciens részletes szemészeti vizsgálaton esett át (visusvizsgálat, réslámpás vizsgálat, szaruhártya fluorescein festése, könnytermelés mérése Schirmer teszttel, könnyfilm

felszakadási idő (break up time, BUT) meghatározás, protrusio mérése Hertel exophthalmometer segítségével, ophthalmoscopia).

A szem elülső szegmentumának vizsgálatára (kötőhártya, caruncula, szaruhártya, elülső csarnok vizsgálata) a könnygyűjtés előtt került sor, a réslámpa fényerejét alacsonyra állítva, annak érdekében, hogy a reflexes könnyezést elkerüljük. A további szemészeti vizsgálatokra a könnyminta vétele után került sor. Azokat a betegeket, akinél bármilyen szemfelszíni vagy szaruhártya érintettség volt látható, kizártunk a vizsgálatból. Minden csoportban kizárási kritérium volt minden olyan állapot, mely ismerten befolyásolja a könny citokin tartalmát (szaruhártya hámsérülés, szemcsepp használat, különös tekintettel antiglaucomás készítményre, uveitis vagy bármilyen krónikus szemészeti megbetegedés az előzményben, conjunctiván vagy bulbuson végzett szemészeti műtét az anamnézisben). Konzerválószer mentes műkönny használat megengedett volt, de a mintavétel reggelén ezt sem cseppentették a páciensek. Kontrollcsoportban kizáró tényezőnek minősült a csökkent könnytermelés és a megrövidült könnyfilm felszakadási idő. Minden EOP beteg esetén meghatároztunk a Clinical Activity Score-t (CAS) a korábban ismertetett módszer szerint (2. táblázat).

A páciensek pajzsmirigy hormon (TSH, fT4, fT3, TRAb) szintjének ellenőrzése vénás vérből történt a klinikai rutin során alkalmazott módszerrel (electrochemiluminescens immunoassay, Elecsys/Cobas Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország), a könnygyűjtés időpontjához számított 5 napos időintervallumon belül.

A páciensek belgyógyászati anamnézisének felvétele során külön figyelmet fordítottunk a dohányzásra vonatkozó anamnézis (korábbi vagy jelenlegi dohányzás időtartama, naponta elszívott cigaretták száma) rögzítésére.

4.2.3. A könnyminták gyűjtésének metodikája

A könnyminta vétele steril üvegapilláris segítségével történt, az alsó könnymeniscusból. A könnygyűjtést minden alkalommal ugyanaz a vizsgáló végezte (UB). Atraumatikus mintavételre törekedtünk, kémiai vagy nasalis ingerlést, illetve felszíni érzéstelenítést nem alkalmaztunk. Egyik páciens sem használt rendszeresen szemcseppet, a konzerválószer mentes műkönny használat megengedett volt, de a mintavétel napján ezt sem alkalmazhatták a páciensek. A mintavétel időtartama 2 perc volt, a gyűjtött könny mennyiséget feljegyeztük. A mintákat 15 percen belül, centrifugálás nélkül -70°C-on fagyaszttva tároltuk a további vizsgálatok elvégzéséig.

4.2.4. Citokin, kemokin és PAI-1 meghatározása könnyben

A vizsgált alkotók (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-17A, IL-13, RANTES és PAI-1) meghatározását áramlási citometria segítségével végeztük. Az ún. multiplex bead array technika során FlowCytomix™ Simplex Kit-et és az ehhez használandó FlowCytomix Basic Kit-et használtuk a gyártó utasításának megfelelően (Bender MedSystems GmbH, eBioscience Company, Bécs, Ausztria).

A méréshez a könnymintákat illetve a megfelelő hígítási sorban elkészített standard „cytokin mix” oldatot fluoresceinnel jelölt csapda gyöngy elegyhez (capture bead mixture) adtuk. Az elegyhez biotin konjugált anti-citokin antitestet (biotin-conjugate mixture) adtunk és a mintákat fénytől védve microplate rázó készüléken 2 órán keresztül inkubáltuk. A szűrő microplate-eket ezután speciális vákuum berendezés segítségével mostuk (MultiScreen HTS Vacuum Manifold; Millipore, Billerica, Massachusetts, Amerikai Egyesült Államok). Ezt követően a mintákhoz adtuk a phycoerythrin konjugált streptavidin oldatot (streptavidin-PE solution) és a fentiek szerint újabb 1 órán keresztül inkubáltuk. Újabb mosást követően a mintákhoz 150 μ l puffer oldatot adtunk. Ezt követően került sor a minták citokin, kemokin és PAI-1 koncentrációjának meghatározására FACS Array cytometer segítségével (BD Biosciences Immunocytometry Systems, San Jose, Kalifornia, Amerikai Egyesült Államok).

Az adatok elemzéséhez a gyártó által javasolt BenderMedSystems FlowCytomix™ Pro 2.4 szoftvert használtuk. A standard görbéket a gyártó által szolgáltatott referencia koncentrációknak megfelelően szerkesztettük meg. A gyártó által a detektálhatóság megadott alsó határai az alábbiak voltak: IL-1 β 4.2 pg/ml, IL-6 1.2 pg/ml, IL-13 4.5 pg/ml, IL-17A 2.5 pg/ml, IL-18 3.3 pg/ml, TNF- α 3.2 pg/ml, RANTES 25 pg/ml valamint PAI-1 esetén 13.5 pg/ml. További hígítási standardok felvételével nagyobb érzékenységet sikerült elérnünk.

4.2.5. Speciális számítások és statisztikai feldolgozás

A meghatározott koncentrációkból (pg/ μ l) és a gyűjtött mennyiségből a mintagyűjtési időt figyelembe véve ún. release (felszabadulás) értéket számítottunk az alábbi képletnek megfelelően. A későbbi adatfeldolgozáshoz a release értékeket (pg/2 perc) használtuk.

$$release = \frac{\text{könnyben mért koncentráció (pg/\mu l)} \times \text{gyűjtött könny mennyiség (\mu l)}}{\text{gyűjtési idő (min)}}$$

A statisztikai számítások során a release értékek logaritmikus transzformációja után a populáció normál eloszlást követett. A citokin, kemokin és PAI-1 release összehasonlítására az egyes csoportok (EOP, GB, C) között varianciaanalízist (analysis of variance, ANOVA) alkalmaztunk Duncan post hoc elemzéssel kiegészítve.

Az egyes citokin, kemokin és PAI-1 szintek és release értékek összefüggésének vizsgálatára az életkorral, klinikai paraméterekkel (CAS, könnytermelés, exophthalmus mértéke) valamint dohányzási anamnézissel (naponta elszívott cigaretták száma, kumulatív dohányzás) Spearman féle korrelációt alkalmaztunk. A két szem közti különbség meghatározására Student féle párosított t próbát valamint Wilcoxon Matched Pairs tesztet használtunk.

A számításokhoz a SAS for Windows 8.2 szoftvert alkalmaztuk. A statisztikai szignifikancia határát $p < 0.05$ értékben határoztuk meg.

5. Eredmények

5.1. A ^{99m}Tc -DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében

5.1.1. Az egészséges orbita normál DTPA felvett aktivitás értékének meghatározása

A kontrollcsoport (Raynaud syndromás betegek) orbitáinak átlagos DTPA felvett aktivitás értéke $7.9 \pm 2.6 \text{ MBq/cm}^3$ -nek adódott. Ennek alapján határoztuk meg a normál orbita DTPA felvett aktivitás értékét, mely a kontrollcsoport értékének 5 és 95 percentilise közé esik. A kontrollcsoport felvett aktivitás értékének 5. percentilise 4.73 MBq/cm^3 míg 95. percentilise 12.28 MBq/cm^3 (CI 11.10-13.51) volt. Ennek alapján feltételezhetjük, hogy 12.28 MBq/cm^3 feletti DTPA érték kórosnak tekintendő, ezen érték felett valószínűleg kapilláris permeabilitás fokozódással járó gyulladás zajlik a vizsgált területben (az alsó értéknek nincs biológiai relevanciája).

5.1.2. Az EOP DTPA SPECT-tel mért javulása az immunosuppresszív kezelés hatására

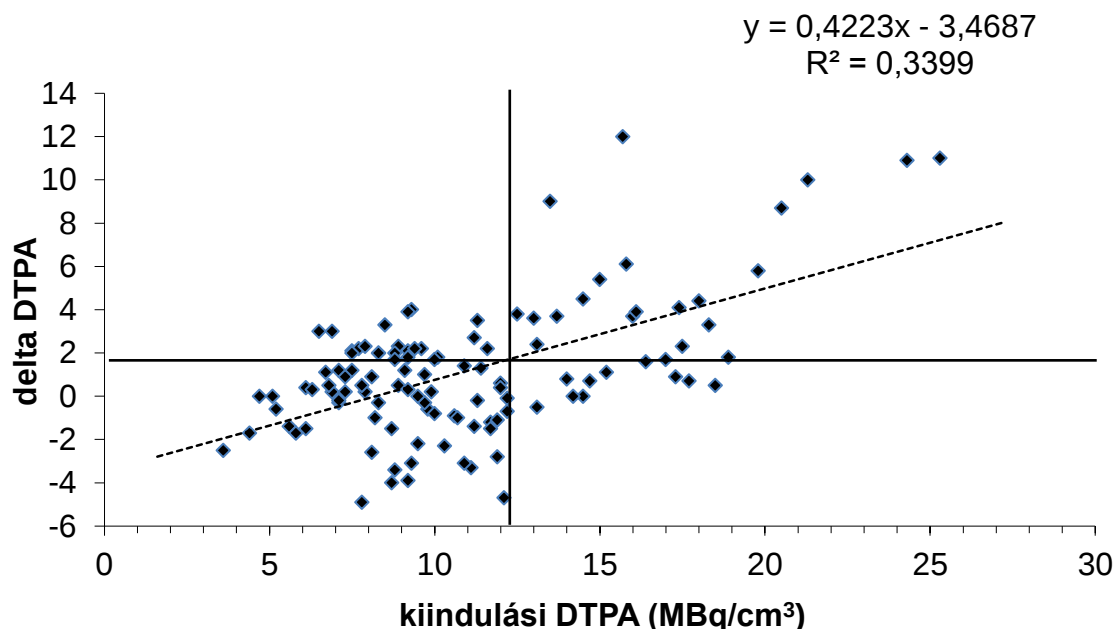
Az EOP betegek átlagos kiindulási DTPA felvett aktivitás értéke ($11.03 \pm 4.26 \text{ MBq/cm}^3$) szignifikánsan magasabbnak bizonyult az immunosuppresszív kezelés utáni átlagos felvett aktivitási értéknél ($9.84 \pm 3.51 \text{ MBq/cm}^3$, $p < 0.001$).

Az EOP csoportban a kiindulási és az immunosuppresszív kezelés utáni DTPA felvett aktivitás érték különbségéből egy származtatott ún. delta értéket számítva (ΔDTPA), szoros pozitív korrelációt találtunk a kezelés előtti DTPA és a kezelés hatására bekövetkező változás (ΔDTPA) értékek között ($r = 0.58$, $p < 0.001$) (4.ábra).

5.1.3. EOP aktivitás CAS alapján, valamint CAS és DTPA összefüggése

Minden EOP beteg esetében meghatároztuk a kiindulási CAS értéket, mely átlagosan 4.93 ± 0.87 volt, illetve a kezelés utáni CAS értéket mely 4.22 ± 1.78 -nak adódott, a javulás mértéke szignifikánsnak bizonyult ($p = 0.009$). Fentihez hasonló módon meghatároztunk

minden orbita Δ CAS értékét is, azonban Δ DTPA és Δ CAS között nem találtunk statisztikailag igazolható korrelációt ($r=0.094$).



4. ábra Immunoszuppresszív kezelés hatására DTPA értékben bekövetkezett változás a kezelés előtti DTPA felvett aktivitás érték függvényében

12.28 MBq/cm³ alatti kiindulási DTPA érték (a függőleges vonaltól balra) esetén az immunoszuppresszív kezelés hatásossága bizonytalan, az esetek nagy részének Δ DTPA értéke 1.72 alatt van (a vízszintes vonal alatti orbiták). Ha a kiindulási DTPA > 12.28 MBq/cm³ (a függőleges vonaltól jobbra levő esetek), kezelés után legtöbbször javulás látszik (az ábra jobb felső kvadránsa).

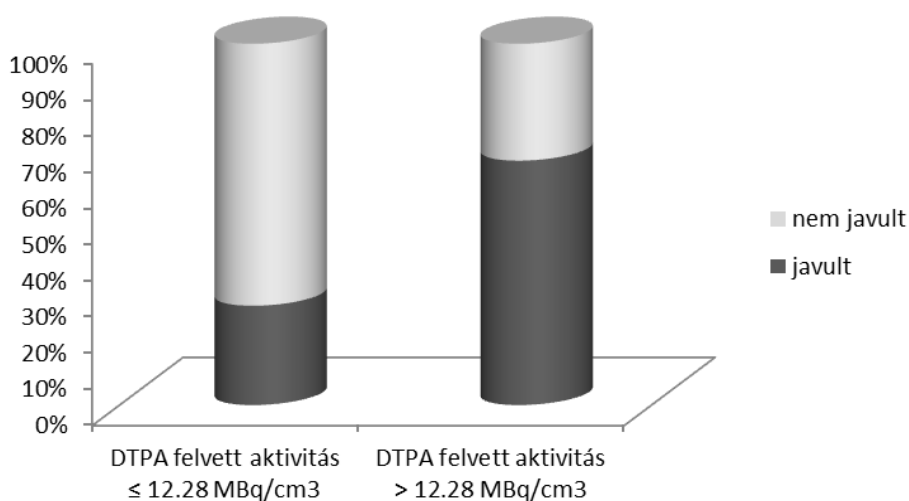
5.1.4. A DTPA SPECT-tel mért „valódi javulás” mértékének meghatározása

Ezen elemzésünk célja az volt, hogy meghatározzuk a változás azon mértékét, amit valódi javulásnak tartunk Δ DTPA vonatkozásában. Lineáris regressziós analízist végezve a kezelés előtti DTPA és Δ DTPA értékeken a $f(x)=0.422x-3.46$ regressziós egyenletet kaptuk. Ezt figyelembe véve meghatároztuk a kontrollcsoport értékei alapján a normál DTPA felvett aktivitás felső határának tekintett (12.28MBq/cm³) értékhez tartozó Δ DTPA értéket, mely 1.72 volt; ennek megfelelően az 1.72-nél nagyobb Δ DTPA javulást tekintettük valódi

javulásnak (4. ábra, vízszintes vonal feletti esetek). Az EOP csoportban a Δ DTPA átlagos értéke 1.89 ± 3.08 volt.

5.1.5. DTPA SPECT prediktív értéke az immunoszuppresszív kezelés várható hatékonyságának előrejelzésében

A vizsgálatba bevont 114 EOP orbitát két csoportra bontottuk annak alapján, hogy a kiindulási DTPA felvett aktivitásuk magasabb volt-e a normál DTPA felvett aktivitás felső határértékénél (12.28 MBq/cm^3). A két csoport összehasonlításakor az alábbi megfigyeléseket tettük. Az EOP betegcsoportban 80 orbita kiindulási DTPA felvett aktivitás értéke volt 12.28 MBq/cm^3 alatti. Ezeknek a DTPA vizsgálat által inaktívnak ítélt orbitáknak csupán 27.5%-a mutatott javulást immunoszuppresszív kezelés után. A 34 orbita közül, melyek kiindulási értéke 12.28 MBq/cm^3 feletti volt, azaz DTPA-val aktívak voltak, 67.6% mutatott javulást terápia után (5. ábra). Végül, azok közül az orbiták közül, amelyeknek kiindulási értéke 6.1 MBq/cm^3 alatti volt, egy sem mutatott javulást a kezelés hatására. Fontos megjegyezni, hogy a vizsgálatba csak klinikai vizsgálat alapján aktív ($\text{CAS} \geq 4$) eseteket válogattunk be (4.1.2 fejezet).



5.ábra Immunoszuppresszív kezelés hatása a normál tartományba eső (bal oldali oszlop) és magasabb (jobb oldali oszlop) kiindulási DTPA értékű betegek esetén

Ennek alapján a 12.28 MBq/cm^3 feletti kiindulási DTPA felvett aktivitás érték immunoszuppresszív kezelés eredményességére vonatkozó pozitív prediktív értéke 67.6%, míg a 12.28 MBq/cm^3 alatti kiindulási DTPA felvett aktivitás érték negatív prediktív értéke 72.5%.

5.2. A könny citokin-, kemokin- és PAI-1- tartalmának meghatározása EOP és Graves-Basedow kór esetén

5.2.1. A szemészeti vizsgálatok eredményei

Szemészeti vizsgálat során réslámpás vizsgálattal nagy nagyítás alatt vizsgáltuk az EOP és GB betegek elülső szegmentumát. Egyik esetben sem találtunk cornealis erósiót vagy ulcerációt illetve fluorescein festődést, mely a szaruhártya hám érintettségére utalna. Ez utóbbi azért jelentős, mert egy esetleges cornea folyamat befolyásolhatja a könnyben lévő citokinek szintjét.

A Schirmer teszt mind az EOP, mind a GB csoportban szignifikánsan csökkent könnytermelést mutatott a kontrollokhoz képest, azonban a két csoport között nem volt szignifikáns különbség. A Schirmer teszt eredménye az EOP csoportban 13.94 ± 10.07 mm, a GB csoportban 14.22 ± 8.04 mm, a kontroll (C) csoportban 19.37 ± 9.17 mm volt.

Az EOP csoportban a CAS átlagos értéke 3.82 ± 2.0 volt, a további betegcsoportokban CAS felvétele definíció szerint nem értelmezhető.

5.2.2. Könnyminták citokin, kemokin és PAI-1 meghatározás eredményei

5.2.2.1. Release és koncentráció különbség az egyes betegcsoportok között

Az egyes csoportokban mért könny citokin, kemokin és PAI-1 koncentrációk és release értékek mediánját, valamint felső és alsó kvartilis értékeket az alábbi táblázatban mutatom be (3. táblázat).

Az EOP és C csoport között szignifikáns különbséget találtunk az IL-1 β , IL- 6, IL- 13, IL-17A, IL-18, TNF- α és RANTES release értékében, az EOP csoportban a release értékek mediánjai szignifikánsan magasabbak voltak ($p < 0.05$).

A GB és C csoport között, valamint az EOP és GB csoport között azonban egyik vizsgált citokin vagy kemokin esetén sem találtunk statisztikailag szignifikáns eltérést a release értékekben. Emellett azonban megfigyeltük, hogy a GB csoportban valamennyi vizsgált érték a kontrollcsoporténál magasabbnak, az EOP csoporténál azonban alacsonyabbnak bizonyult (6. ábra).

PAI-1 vonatkozásában a release érték mind az EOP, mind a GB csoportban szignifikánsan magasabbnak bizonyult a kontroll csoporthoz viszonyítva. Ugyanakkor PAI-1

esetén az EOP és GB csoportok közötti különbség is szignifikánsnak bizonyult. Tehát a PAI-1 release legmagasabb az EOP csoportban volt, GB csoportban közepes, a C csoportban legalacsonyabbnak bizonyult, minden csoport között a különbség szignifikáns volt (3. táblázat, 6. ábra).

		Release (pg/2 perc)			Koncentráció (pg/ml)		
		Medián	Alsó kvartilis	Felső kvartilis	Medián	Alsó kvartilis	Felső kvartilis
IL-1 β	C	9,58	4,47	14,04	701,02	403,99	974,41
	GB	16,13	5,58	19,51	797,83	384,2	1124,57
	EOP	20,67*	6,04	32,32	1083,54	585,47	1263,51
IL-6	C	1,61	0,72	2,01	119,7	66,38	152,12
	GB	2,62	1,13	3,98	133,03	90,5	166,99
	EOP	4,07*	0,92	6,65	204,19	100,95	243,56
IL-13	C	5,25	2,63	7,19	424,45	220,14	515,85
	GB	7,73	3,38	10,63	444,34	298,83	545,33
	EOP	9,31*	4,29	13,38	547,28	317,01	692,33
IL-17A	C	3,39	0,32	4,97	179,21	70,27	258,44
	GB	5,52	0,67	7,13	257,57	78,05	299,68
	EOP	8,39*	1,23	12,22	386,34	95,71	455,27
TNF-α	C	3,97	1,42	6,18	264,31	168,34	307,62
	GB	6,58	2,09	8,98	332,89	167,21	418,03
	EOP	8,58*	2,11	12,44	444,31	178,06	535,31
RANTES	C	6,4	1,38	9,69	379,41	246,44	479,59
	GB	9,74	2,83	15,08	496,96	267,57	663,63
	EOP	12,34*	3,69	19,97	648,81	322,94	740,32
IL-18	C	29,96	9,91	49,77	1855,66	1158,36	2581,87
	GB	50,83	14,67	70,82	2480,56	1213,82	3553,84
	EOP	66,28*	15,79	100,87	3411,37	1722,58	3913,63
PAI-1	C	6,87	3,025	9,9	366,67	227,89	687,5
	GB	9,81*	1,93	15,95	463,89*	210,07	623,33
	EOP	11,73**	1,38	22	555,32**	265,83	673,75

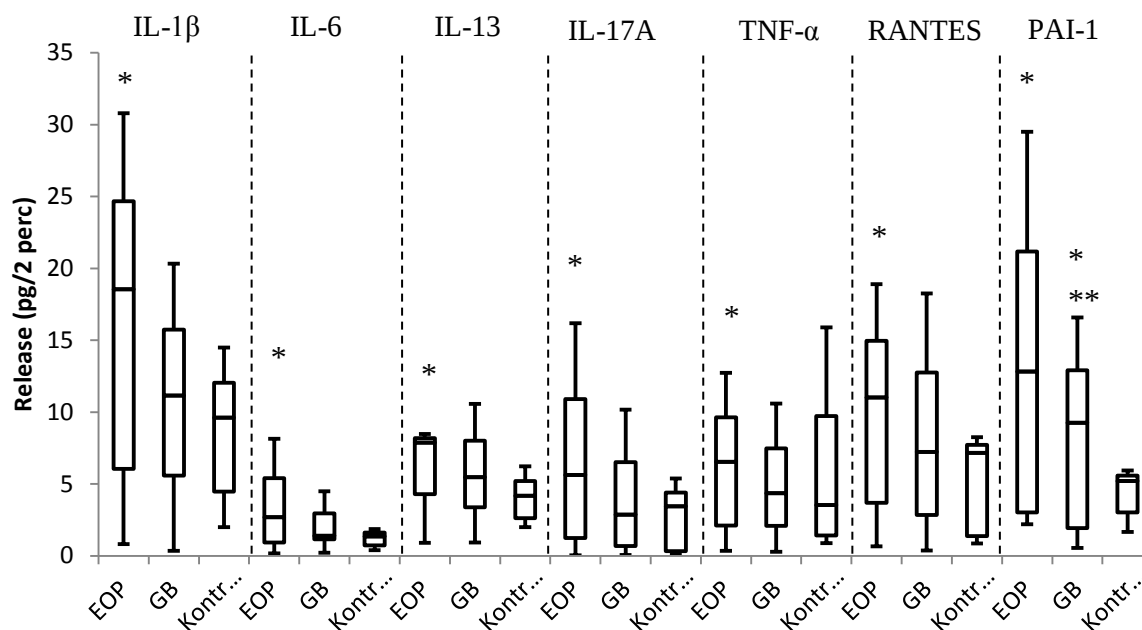
3.táblázat Könnyminták citokin, kemokin és plazminogén aktivátor inhibitor-1 koncentráció és release értékei az egyes betegcsoportokban

A csillaggal (*) jelölt értékek szignifikánsan magasabbak a kontroll csoport értékeinél

A két csillaggal jelölt (**) PAI-1 koncentráció és release értékek esetén szignifikáns különbséget találtunk az endokrin orbitopathiás (EOP) és Graves-Basedow kórban szenvedő betegek (GB) között is.

A statisztikai elemzés az adatok logaritmikus transzfomációja után (mely után a populáció eloszlása normál eloszlásúvá vált) variancianalízissel (ANOVA) történt, Duncan féle post hoc elemzéssel kiegészítve.

Rövidítések: Interleukin (IL), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted (RANTES), Plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1)



6.ábra Citokin és plazminogén aktivátor inhibitor-1 release betegcsoportonként a vizsgált könnymintákban.

A kontrollcsoporthoz képest szignifikáns emelkedést csillag (*) jelöli. PAI-1 esetén két csillag jelöli (**) a szignifikáns különbséget az endokrin orbitopathiás (EOP) és Graves-Basedow kóros (GB) betegek között. Mivel IL-18 esetén a kapott érték egy nagyságrenddel nagyobb (lásd 3. táblázat), ezért a könnyebb áttekinthetőség érdekében az ábrán nem szerepel.

Rövidítések: Interleukin (IL), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted (RANTES), Plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1)

5.2.2.2. Összefüggés a vizsgált release értékek között

Minden esetben erős pozitív korrelációt találtunk, amikor az egyes citokinek release értékeit páronként hasonlítottuk össze. Az elemzést itt az összes mintán, mint egy populáción végeztük, mivel a citokinek egymásra való hatását kívántuk vizsgálni betegségtől függetlenül. A korrelációs koefficiens 0.66 és 0.97 között változott, $p < 0.01$ volt minden esetben. A legerősebb korrelációt IL-1 β és RANTES ($r = 0.96$ $p < 0.001$), valamint az IL-1 β az IL-1 citokin család citokinjei (IL-18: $r = 0.97$, $p < 0.001$, IL-17A: $r = 0.89$, $p < 0.001$) vonatkozásában találtuk.

Pozitív korrelációt találtunk az összes vizsgált citokin és kemokin release értéke és a könnybe szekretálódó PAI-1 értéke között (IL-1 β -ra vonatkozóan: $r = 0.23$ $p = 0.002$, IL-6-ra vonatkozóan: $r = 0.31$ $p = 0.001$, IL-13-ra vonatkozóan: $r = 0.30$ $p = 0.001$, IL-17A-ra

vonatkozóan: $r=0.23$ $p=0.015$, IL-18-ra vonatkozóan: $r=0.24$ $p=0.012$, TNF- α -ra vonatkozóan: $r=0.29$ $p=0.002$ valamint RANTES-ra vonatkozóan: $r=0.23$ $p=0.014$).

5.2.2.3. *A release értékek összefüggése az életkorral*

Életkor vonatkozásában citokinek esetén csupán IL-17A esetében találtunk korrelációt, itt az összefüggés gyengének és negatívnak bizonyult ($r= -0.21$, $p<0.05$). PAI-1 vonatkozásában is gyenge negatív korrelációt találtunk az életkorral ($r= -0.24$ $p<0.05$). Az elemzést itt az összes mintán, mint egy populáción végeztük, mivel az életkor citokinekre való hatását kívántuk vizsgálni betegségtől függetlenül.

5.2.2.4. *Pajzsmirigy hormonszintek vizsgálata*

A betegcsoportok átlagos TSH, fT3 és fT4 értékét a 4. táblázat tartalmazza. Mivel a TRAb szint az esetek nagy részében mérési határ (<0.1 U/l) alatt volt, ezért a táblázatban nem szerepel. A rutin endokrinológiai vizsgálat során elvégzett szérumszintű pajzsmirigy stimuláló hormon, szabad hormon szintek valamint TSH receptor stimuláló antitest vonatkozásában (TSH, fT3, fT4, TRAb) nem volt szignifikáns különbség az EOP és GB csoport betegei között, ami arra utal, hogy a csoportok közötti egyéb eltérések nem a pajzsmirigy funkció különbözőségéből származtak.

	TSH (mU/l)	fT3 (pmol/l)	fT4 (pmol/l)
EOP csoport	2,02 $\pm$ 1,23	7,93 $\pm$ 4,85	20,42 $\pm$ 16,29
GB csoport	0,86 $\pm$ 0,45	7,29 $\pm$ 9,75	28,49 $\pm$ 19,45

4. táblázat Pajzsmirigy hormonszintek az egyes betegcsoportokban

Nem igazolódott statisztikailag szignifikáns különbség a betegcsoportok TSH, fT3, fT4 és TRAb szintje között. Mivel a TRAb az esetek jelentős részében mérési határ alatt volt, ezért számmal nem kifejezhető, így a táblázatban nem szerepel.

Rövidítések: EOP: endokrin orbitopathia, GB: Graves-Basedow kór, TSH: thyreoidea stimuláló hormon, fT3: szabad trijód-tironin, fT4: szabad tiroxin

5.2.2.5. *A jobb és bal orbiták eredményeinek összehasonlítása*

Összehasonlítva az egyes betegek két szeméből vett könnymintáit, minden vizsgált citokinre, kemokinre és PAI-1-re vonatkozóan szignifikáns különbséget találtunk a két oldal között ($p<0.05$ minden vizsgált citokin esetén, $p<0.001$ IL-6, IL-18 és PAI-1 esetén). Az

elemzést itt az összes mintán, mint egy populáción végeztük, mivel a két szem különbözőségét szándékoztunk vizsgálni betegségtől függetlenül. Eredményünk igazolja, hogy a két szem mintái külön esetnek tekintendők, azok együttes kezelése vagy esetleges „pool-ozása” jelentősen torzította volna a mérések eredményét.

5.2.2.6. *A könnytermelés és a release értékek összefüggése*

A könnytermelés (Schirmer teszt) és citokin release vonatkozásában az alábbi összefüggéseket találtuk. A kontroll csoportban pozitív korreláció volt megfigyelhető minden vizsgált citokin és kemokin (IL-1 β : $r=0.53$, $p=0.002$, IL-6: $r=0.46$, $p=0.01$, IL-13: $r=0.50$ $p=0.005$, IL-17A: $r=0.54$ $p=0.002$, IL-18: $r=0.54$ $p=0.002$, TNF α : $r=0.52$ $p=0.003$ és RANTES: $r=0.56$ $p=0.001$) valamint PAI-1 ($r=0.40$ $p=0.002$) vonatkozásában. Ezzel ellentétben sem az EOP, sem a GB csoportban nem találtunk szignifikáns korrelációt a citokin vagy kemokin release és a könnytermelés mértéke (Schirmer teszt) között. PAI-1 releasesre vonatkozóan az EOP csoportban megfigyelhető volt egy gyenge pozitív korreláció ($r=0.28$ $p=0.04$), a GB csoportban ilyen összefüggés nem volt.

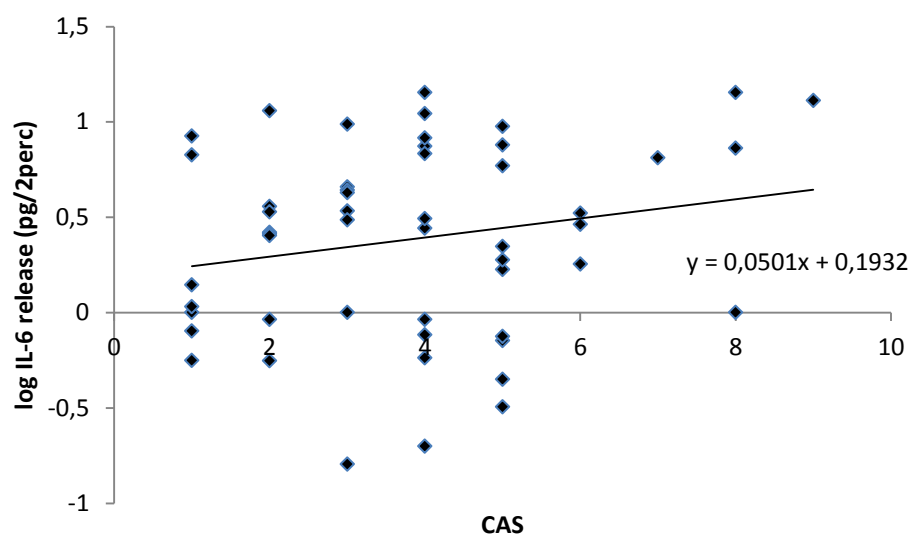
5.2.2.7. *A dohányzás és a release értékek összefüggése*

A dohányzás vonatkozásában az alábbi eredményeket kaptuk. A 27 EOP beteg közül 10 volt korábbi vagy jelenleg is dohányzó páciens. A kumulatív dohányzási mennyiség 78309 ± 53631 db cigaretta volt (dohányzással eltöltött évek alatt összesen elszívott cigaretták száma), átlagosan napi 14.73 ± 6.61 db cigarettát szívtak el az EOP betegek. A 9 GB beteg közül 6 volt korábbi vagy jelenlegi dohányos. Itt a kumulatív mennyiség 85166 ± 101169 db cigaretta volt, átlagosan napi 11.67 ± 10.81 cigarettával. A kontroll csoportban nem volt aktívan vagy korábban dohányzó páciens. Nem találtunk szignifikáns összefüggést a citokin release értékek valamint a dohányzás ténye (igen/nem) között illetve az elszívott cigaretták mennyiségével sem az egyes betegcsoportokban. Abban az esetben sem találtunk a dohányzás és a citokin release vonatkozásában összefüggést, ha az összes beteget egy csoportként vetettük össze a dohányzási adatokkal, függetlenül EOP vagy GB kór meglététől.

5.2.2.8. *Az EOP immunológiai aktivitásának összefüggése a release értékekkel*

Az EOP CAS szerinti aktivitásának vizsgálata során az alábbi összefüggéseket találtuk. Szignifikáns pozitív korreláció volt megfigyelhető az EOP csoportban a CAS és az IL-6 release ($r=0.27$, $p<0.05$), az exophthalmus mértéke (Hertel exophthalmometerrel mérve,

mm-ben kifejezve) és az IL-6 release ($r=0.34$, $p<0.05$) valamint a CAS és a PAI-1 release ($r=0.24$, $p=0.03$) között.



7. ábra Clinical Activity Score és Interleukin-6 könnybe való szekréciójának összefüggése

Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk az endokrin orbitopathiás csoportban a CAS és az interleukin-6 (IL-6) release között ($r=0.27$, $p<0.05$).

6. Megbeszélés

Az endokrin orbitopathia autoimmun pajzsmirigy betegségekhez társuló kórkép (4-8). A folyamat pathogenesisét tekintve a retrobulbaris kötőszövet szerepe a legfontosabb (32), melyhez a külső szemizmok (33) és a könnymirigy (93-97) érintettsége is társul. A betegség lefolyása során a kezdeti autoimmun gyulladást (aktív szak) az orbita szöveteinek heges átalakulása, fibrosisa váltja fel (inaktív szak) (4, 6, 40). A kezelési stratégia kialakítása során kulcskérdés, hogy a betegség immunológiailag aktív vagy inaktív (56). Az autoimmun folyamat térben és időben is elkülönül a klinikai tünetek megjelenésétől, az EOP aktivitása és súlyossága nem szinonim fogalmak (6). Az aktivitás megítélésére korábban lehetőségként számos eljárás merült fel, ám használhatóságuk különböző okokból korlátozottnak bizonyult (73-76, 78, 79). A klinikai gyakorlatban jelenleg a CAS (71) felvétele a legelterjedtebb módszer. Előnye, hogy a páciens anamnézise és rutin szemészeti vizsgálata során megítélhető, hátránya azonban, hogy szubjektív, ezért eredménye függ a vizsgáló személyétől és rutinjától, így reprodukálhatósága megkérdőjelezhető. Felmerül, hogy a CAS sok esetben „felülbecsülheti” az aktivitást, mivel a tíz vizsgált pontból öt a szemhéjak illetve az elülső szegmentum állapotától függ, a gyulladás helye azonban a retrobulbaris kötőszövet, további kettő pedig a páciens szubjektív panaszain alapul (2. táblázat).

Kutatásaink, így az értekezés fő témája is az újabb módszerek keresése illetve alkalmazhatóságának vizsgálata az EOP aktivitásának megítélésére. Vizsgálataink két irányra oszlottak. Elsőként a képalkotó vizsgálatok tárháza került figyelmünk központjába. A nukleáris medicina technikái közül egy újabb radiofarmakonnal, ^{99m}Tc jelzett DTPA izotóppal végzett SPECT vizsgálat alkalmazhatóságát vizsgáltuk. Második vonalban a könnyfilm összetételének megváltozására összpontosítottunk, az után kutatva, hogy milyen eltérések vannak az aktív és inaktív EOP betegek, illetve a Graves-Basedow kórban szenvedők könnyösszetétele között. Olyan markert kerestünk, melynek megjelenése, szintjének megemelkedése vagy esetleg csökkenése összefüggésben áll a betegség aktivitásával.

A nukleáris medicina által alkalmazott képalkotó eljárások nem új keletűek az EOP aktivitásának diagnosztikájában. Az ^{111}In -octreotide scintigraphia (80) volt az első ilyen ismertetett eljárás. Az ^{111}In -octreotide radiofarmakon a gyulladás helyszínére vándorló lymphocyták szomatosztatin receptorához kötődik. Előnye, hogy működési elvéből eredően pontosan megjelöli a gyulladt szöveteket, magáról a folyamat meglétéről vagy hiányáról ad információt, egyik hátránya, mely széles körű elterjedését is megakadályozta, a magas költség

(81). További radiofarmakonok ezen a területen való alkalmazása jelenleg is kutatások tárgyát képezi (82-86).

A ^{99m}Tc -DTPA SPECT ezen területen történő alkalmazhatóságát munkacsoportunk már korábban is felvetette (87). A ^{99m}Tc -DTPA komplex intravénás bejuttatás után a megnövekedett kapilláris permeabilitással rendelkező érszakaszon extravasalódik, míg normál kapilláris szerkezet esetén lumenen belül marad (88). Azon szövetekben, ahol aktív gyulladás zajlik, a kapillárisok permeabilitása megnő. Ennek megfelelően az immunológiailag aktív EOP betegek esetén, az intravénásan bejuttatott ^{99m}Tc -DTPA az orbita kötőszöveteiben extravasalódik. Az érpályából kijutó radiofarmakon az intersticiális folyadék polypeptidjeihez kötődve „megjelöli” az aktív gyulladás helyét. A ^{99m}Tc -DTPA dúsulása az inflammatio helyén SPECT módszerrel detektálható. Az EOP aktivitásának megítélésére használt módszerek vizsgálata során bevett kutatási stratégia, hogy az immunosuppresszív kezelés hatásosságát és annak előre jelezhetőségét ítélik meg az adott módszerrel (71, 84). Az elmélet a betegség természetes lefolyásán és terápiára adott válaszára alapul, miszerint a kezdeti aktív szakban alkalmazott immunosuppresszív kezelésre a folyamat jól reagál, míg az inaktív szakban adott terápia már hatástalan (40). Ennek alapján feltételeztük, hogy azon betegek, akiket a klinikai rutin során használt eljárással (CAS) aktívnak minősítünk és nemzetközi ajánlásnak megfelelő algoritmus szerint kezelünk (1. ábra), és az általunk vizsgált leképzési technikával (DTPA SPECT) kezelés előtt és után megvizsgálunk, ki tudjuk válogatni azokat az eseteket, akik valóban reagálnak az immunosuppresszív kezelésre. Ezekről az esetekről tartjuk, a fentiek szerint, hogy kiinduláskor valóban aktívak voltak.

Az egészséges orbita normál DTPA felvett aktivitása korábban nem volt ismert. Első célunk ennek az értéknek a meghatározása volt, melyhez olyan pácienseket választottunk, akik mind szemészeti, mind endokrinológiai szempontból egészségesek (ideális kontrollcsoport). Ugyanakkor teljesen egészséges páciensek SPECT vizsgálata az eljárással járó sugárterhelés miatt etikai szempontból nem elfogadható. Az alkar-kéz microcapillaris keringés vizsgálata Raynaud syndroma esetén ^{99m}Tc DTPA SPECT eljárással a klinikai gyakorlat során használt eljárás (98). Kontrollcsoportként így kézenfekvő volt olyan primer Raynaud syndromás betegeket beválogatni, akik szemészeti és endokrin szempontból egészségesek. Ezen betegek alkar-kéz SPECT vizsgálata során az orbita területéről is készítettünk felvételeket, ezt tekintettük a normál orbita DTPA SPECT képének és felvett aktivitásának. Mivel célunk az volt, hogy meghatározzuk azt a felvett aktivitás értéket az orbita területében, ami felett az érték már kórosnak tekinthető, a kontrollcsoport értékeinek 95. percentilisében határoztuk meg ezt az értéket, mely 12.28MBq/cm^3 -nek adódott. Ez

alapján az előbbi érték feletti orbitákat tartjuk aktívnak, az ez alattiakat inaktívnak EOP esetén. Ezen feltételezésünket kívántuk alátámasztani az EOP betegek követéses (prospektív) vizsgálatával.

Vizsgálatainkba 57 EOP beteget vontunk be, minden esetben az immunosuppresszív kezelés előtt, majd azt követően átlagosan 5 hónappal végeztünk ismételt DTPA SPECT vizsgálatot. Esetszámunk a korábbi újabb radiofarmakonokkal végzett vizsgálatokhoz képest nagyobb, ezekben 14-26 betegen vizsgálták az adott módszer alkalmazhatóságát (82, 85, 86). Az immunosuppresszív kezelés indikációját, így a fő beválogatási kritériumot is a klinikai vizsgálattal meghatározott aktivitás, azaz a 4 vagy afeletti CAS érték jelentette (6). Ennek alapján érthető, hogy a kiindulási és kezelés utáni DTPA felvett aktivitás érték között szignifikáns különbséget találtunk, az utóbbi bizonyult alacsonyabbnak.

Az immunosuppresszív kezelés hatásosságának vizsgálatához fontos ismernünk, hogy mekkora az a változás Δ DTPA vonatkozásában (ahol Δ DTPA a kiindulási és kezelés utáni DTPA felvett aktivitás különbsége), amit már valódi javulásnak tekintünk. Biológiai rendszerekben ugyanis mindig számolnunk kell bizonyos mértékű fluktuációval, mert kismértékű változást a betegség természetes lefolyása, vagy a két vizsgálat idején fennálló átmeneti keringési különbség is magyarázhat. Ehelyett feltételeztünk egy „szürke zónát” amin belül a változás/javulás ugyanúgy lehetett a véletlen műve, mint a kezelésre adott valódi pozitív válasz. A valódi javulás meghatározásához a lineáris regressziós analízis modelljét használtuk. A kezelés előtti DTPA és Δ DTPA értékek között meghatározott, statisztikailag szignifikáns összefüggés alapján meghatároztuk azt a teoretikus változást, amit már nem tekintünk a biológiai rendszer bizonytalanságának. A feltételezés alapja, hogy a korábban definiált normál felső értékhez (kontrollcsoport felvett aktivitás értékének 95. percentilise) tartozó változás már valódi javulásnak tekinthető. Ez alapján az 1.72 feletti Δ DTPA értéket tekintettük valódi javulásnak. (4. ábra, vízszintes vonal feletti esetek).

A fentieket figyelembe véve az alábbi megfigyeléseket tettük az orbita DTPA felvett aktivitása és az EOP immunológiai aktivitására vonatkozóan. A kiindulási DTPA értékek vonatkozásában az orbiták mintegy 70%-a volt az általunk meghatározott normál érték (12.28MBq/cm^3) alatt, azaz DTPA tekintetében inaktív. Különösen érdekes ez az arány, ha figyelembe vesszük, hogy a vizsgálatba csak a CAS alapján aktív eseteket válogattunk be. Ráadásul, ezen DTPA alapján inaktív orbiták 72.5%-a nem mutatott javulást a kezelés hatására, azaz fenti gondolatmenet alapján valóban inaktívnak tekinthetők (5. ábra). Feltételezhetjük, hogy ezek azok az esetek, akiknél a CAS felvétele során az aktivitást „túlbecsültük”. Ennek háttere lehet részben, hogy a vizsgálat időpontjában a pácienseknek

még heves szubjektív panaszai voltak, a betegek ugyanis sokszor többszöri rákérdezés ellenére sem tudják megkülönböztetni a szemgolyó mögötti illetve szemmozgásra jelentkező nyomó fájdalmat a szemszárazságra visszavezethető szemfelszíni diszkomfort inkább szűrő jellegű éles fájdalmától. Ennek a két tünetnek a figyelembe vétele az ilyen esetekben két ponttal tévesen emeli a CAS értékét. A CAS „túlbecslését” okozhatja továbbá, hogy a tíz pontból további öt a szem járulékos szerveire (szemhéjak) és az elülső szegmentumra (conjunctiva, caruncula) vonatkozik, melyeknek oedemája, hyperaemiája a visszamaradt nagyfokú protrusio következménye is lehet az inaktív szakban. Alátámasztja a feltételezésünket, miszerint több olyan beválogatott páciens volt, akinek CAS értéke 4 vagy afeletti volt, és a CAS kiindulási és kezelés utáni értéke között volt szignifikáns csökkenés, de a CAS és Δ CAS (kezelés előtti és utáni CAS érték különbsége) között nem találtunk olyan összefüggést, mint DTPA vonatkozásában. Fontos továbbá, hogy a Δ DTPA és Δ CAS között sem találtunk statisztikailag igazolható korrelációt.

A ^{99m}Tc DTPA SPECT módszer előnye, hogy működési elvéből következően az autoimmun folyamat valódi anatómiai helyéről, az orbita retrobulbaris teréről ad képi és numerikus információt (87, 99) (3. ábra). Hasonlóan jó módszer az aktivitás megítélésére az ^{111}In Octreotid SPECT (Octreoscan), (80), melynek mindennapi gyakorlat számára való elérhetőségét annak igen magas költsége akadályozta meg (81). A ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálat lényegesen költséghatékonyabb, ráadásul a két vizsgálat (Octreoscan és DTPA) eredményei közötti jó korrelációt korábbi vizsgálatok már igazolták (89).

Összefoglalva tehát megállapítottuk, hogy a ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálat alkalmas az immunosuppresszív kezelés hatásának előrejelzésére, azaz az aktivitás megítélésére endokrin orbitopathiában. Azon betegek, akiknek kiindulási értéke $12.28\text{MBq}/\text{cm}^3$ felett van, várhatóan jól reagálnak a terápiára, míg ez alatt terápiás előny nem várható, csupán a kezelés esetleges mellékhatásaival kell számolnunk. A vizsgálat pozitív prediktív értéke 76%, míg negatív prediktív értéke 78%. Képalkotó vizsgálatok közül az orbita T2 súlyozott MR vizsgálat immunosuppresszív kezelés hatásosságának előrejelzésére vonatkozó pozitív prediktív értéke 69%, negatív prediktív értéke 86% (100), az Octreoscan pozitív prediktív értéke 92%, negatív prediktív értéke 70%(101). A klinikai gyakorlatban széles körben alkalmazott CAS pozitív prediktív értéke a módszer leírójának eredeti közlése szerint 80%, míg negatív prediktív értéke 64% (71).

A könnymirigy érintettségét endokrin orbitopathiában több vizsgálat is igazolta (93) (94). A pajzsmirigyhormonok könnymirigyre kifejtett direkt hatása is ismert, mind a könnymirigy szerkezetét, mind működését befolyásolják (95). A könnymirigy lymphocytá

infiltrációját EOP esetén octreotid scintigraphias vizsgálatokkal bizonyították **(96, 97)**. Vizsgálataink második csoportjában az EOP esetleges hatásait vizsgáltuk a könny összetételére. Az endokrin orbitopathiához társuló szemfelszíni változások több évtizede képezik kutatás tárgyát. Gilbard és munkatársai figyelték meg elsőként a könny ozmolaritásának emelkedését **(67)**. A következményes szemfelszíni változások a könnyfilm felszakadási idő (BUT) és könnytermelés csökkenését, cornea epithel sejtjeinek károsodását okozzák **(66), (90)**.

A könny a szemfelszíni egyensúly fenntartásának igen fontos eleme. A szemfelszínen zajló változások a gyulladásos reakciókban résztvevő sejtek (lymphocyták, macrophagok) aktiválódásával járnak, melyek különböző citokinek és kemokinek szekréciójához vezetnek. A könnyfilm citokin egyensúlyának változását az adott napszak **(102)** illetve a szemhéjak nyitott vagy zárt állapota **(103)** is befolyásolja. A könny citokin tartalmát több szemészeti illetve szisztémás betegség is befolyásolhatja **(104)**. A szezonális allergiás conjunctivitis **(105)**, a cysticus fibrosis **(106)**, sőt az antiglaucomás szemcseppek rendszeres használata **(107)** is hatással van a könny citokin összetételére. Egyes citokinek szintje Sjögren syndromában megemelkedik **(108, 109)**. A dohányzás, mely az endokrin orbitopathia ismert rizikófaktor (22), passzív formában is emeli a könny proinflammatorikus citokin szintjét **(110)**. Közel azonos változásokat írtak le a könny összetételében egészséges dohányzó emberek és endokrin orbitopathiás betegek esetén **(111)**.

A könny fehérje összetétele EOP esetén megváltozik, mely háttérében a szemfelszíni változások mellett az EOP könnymirigyre kifejtett hatását is feltételezik **(91)**. Proteomikai vizsgálatok is alátámasztották a könny fehérje összetételében bekövetkező változásokat, de a folyamatban résztvevő molekulák még azonosításra várnak **(92)**.

A plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1), mely a fibrinolysis fő inhibitora, fontos szerepet tölt be a szöveti remodelling és vascularis szabályozás folyamataiban **(112, 113)**. A PAI-1 szerepe az endokrin orbitopathia pathogenesisében már korábban felmerült, ismert, hogy az EOP betegek PAI-1 szérumszintje emelkedett **(114)**. A TNF- α , melynek szerepe az EOP pathogenesisében ismert, a PAI-1 gén aktivációjának és expressziójának is agonisája **(115)**.

Vizsgálatunk tárgya az volt, hogy megfigyeljük a humán könnyfilm változásait különböző citokinek (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-17A és IL-13), a kemokin RANTES és a PAI-1 vonatkozásában EOP esetén. Elemeztük, hogy befolyásolja-e a könny ilyen jellegű összetételét maga a Graves-Basedow kór, illetve az aktív és inaktív orbitopathia.

A vizsgálatok kivitelezését az ún. multiplex bead array technika tette lehetővé, mellyel áramlási citometria segítségével egyszerre számos paramétert vizsgálhatunk. Jelen esetben ez különösen fontos volt, hiszen az EOP betegek nagy részére jellemző a száraz szem (53, 54) ezért a mintavételi idő alatt sok esetben csak kis mennyiségű (5-10 µl) könnyet tudtunk gyűjteni. A 2 perces mintavételi idő mellett több tényező figyelembe vételével döntöttünk. Ez az időtartam a páciens által még jól tolerálható, de már elegendő könny mennyiség áll rendelkezésre a további feldolgozáshoz **(116)**. Korábbi tanulmányok bemutatták, hogy egy szekretált fehérje, mint például a citokinek, könnybe való szekréciós rátája (release) sokkal pontosabb indikátor, mint a koncentráció, különösen mivel a könnytermelés sebessége egyénenként igen eltérő lehet **(104)**. A könnyalkotók 2 perc alatti termelődése (pg/2 min) az irodalomban több helyen használt paraméter **(104, 117)**, további elemzéseinkhez mi is ezt a mértékegységet használtuk.

Graves-Basedow kórban a szövetek TNF- α , IL-1 β és IL-6 **(118)** koncentrációja megnő, a szérumban pedig az IL-6 szintje **(74)** emelkedett. Ezzel ellentétben, vizsgálataink során nem találtunk szignifikáns különbséget a GB betegek és kontrollok könnye között a fenti citokinek vonatkozásában. Ebből arra következtetünk, hogy EOP esetén a proinflammatorikus citokinek megjelenése a könnyben nem a GB kór, hanem magának az orbitopathiának a következménye. A könnybe szekretálódó citokinek és kemokinek forrása számos lehet; a könnymirigy és a kötőhártya járulékos könnymirigyei, a fibroblastok és a szemfelszínre vándorló immunokompetens sejtek mind felelősek lehetnek a különböző citokinek felszabadulásáért **(119)**. A könnymirigy érintettsége az EOP autoimmun folyamatában jól ismert **(74-78)**. A kötőhártya és episclera gyulladása az EOP klasszikus klinikai tünetei előtt is kialakulhat és háttérben ugyanazt a lymphocyta infiltrációt feltételezik mint a külső szemizmok érintettsége esetén **(120)**. Újabban a szemfelszín érintettségét az autoimmun folyamat direkt manifesztációjának tekintik EOP esetén, nem pedig az exophthalmus mechanikai hatásának; a kötőhártya korai érintettségét Graves-Basedow kórban pedig a manifeszt EOP előszobájának tartják **(121)**.

Az EOP betegek könnyében szignifikánsan magasabbnak találtuk a TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-17A, IL-13 és RANTES release értékét a kontrollcsoportéhoz viszonyítva.

A TNF- α és IL-1 β macrophag eredetű citokinek és az EOP pathogenesisében kulcsszerepet játszanak **(37, 122)**, felszabadulásuk fokozza a retrobulbaris kötőszövet fibroblastjainak ICAM-1 expresszióját és GAG termelését **(38)**. A könnybe nagyobb mértékben szekretálódó TNF- α és IL-1 β felveti ezek szerepét, nem csak a retrobulbaris kötőszövetben, hanem a könnymirigyben és a szemfelszínen is. Az IL-1 β aktiválja a

fibroblastokat, melyek ennek hatására a T sejtekre ható anyagokat, kemokineket kezdenek termelni (mint például a RANTES (39)), melyek további lymphocita vándorlást váltanak ki a gyulladás helyére. Mindez megmagyarázhatja az EOP betegek könnyében mért magas RANTES release értékét. Erős korrelációt találtunk az IL-1 β és RANTES, valamint IL-1 β és IL-18 release értékeiben. Korábban mind EOP, mind GB betegek szérumban emelkedett IL-18 koncentrációt írtak le (123). Ezzel ellentétben az IL-18 release csak az EOP betegek könnyében bizonyult szignifikánsan magasabbnak a kontrollokéhoz képest, a GB páciensek könnyében nem.

IL-6 vonatkozásában több mint kétszeres release emelkedést tapasztaltunk az EOP betegek könnyében a kontrollcsoporthoz viszonyítva. Megfigyeltük továbbá, hogy a CAS értékek és az IL-6 release pozitív korrelációt mutat. Ez arra enged következtetni, hogy összefüggés van a betegség aktivitása és az IL-6 könnybe való szekréciója között. Az IL-6 és EOP összefüggése nem új keletű, korábban a szérumban IL-6 koncentráció emelkedéséről mind EOP, mind GB kór esetén beszámoltak (74). Ugyanakkor ismert, hogy a szérumban IL-6 szintjét számos egyéb tényező, például a pajzsmirigy hormonok szintje vagy az alkalmazott terápia is befolyásolhatja, ezért EOP aktivitásának meghatározására igen korlátozottan használható (31). A könny IL-6 koncentrációja Sjögren-szindrómában megemelkedik (124). Bár az endokrin orbitopathia ismertén száraz szemmel jár, de ennek oka részben a csökkent könnytermelés (67) (úgynevezett nem-Sjögren típusú száraz szem) részben pedig az exophthalmus miatti fokozott könnypárologás (66). Az EOP önmagában nem társul Sjögren-szindrómával. Igazolt továbbá, hogy Sjögren-szindrómában a könny IL-6 tartalma lényegesen magasabb, mint ún. nem-Sjögren típusú száraz szem esetén (125). Mindezek mellett, hogy megvizsgálhassuk a könnytermelés hatását eredményeinkre, mindkét betegcsoportunkban (EOP és GB) és a kontrollcsoportban is Schirmer-teszttel mértük a könnytermelést. Eredményeink az irodalmi adatokkal egybehangzóak (126), miszerint mind az endokrin orbitopathiás, mind az orbitopathia nélküli Graves-Basedow-kóros páciensek könnytermelése csökkent a kontrollcsoportéhoz képest. Ugyanakkor Gurdal és munkatársai is megemlítik, hogy a szemfelszíni érintettség sok esetben megelőzi a klasszikus EOP-tüneteinek kialakulását (126), így a GB-csoportban több olyan beteg is lehet, akinél klinikailag az EOP még nem igazolt, de már zajlik a retrobulbaris autoimmun gyulladás („szubklinikus” EOP). Ahogyan a szemfelszíni érintettség is korábban megjelenik (120), a proinflammatorikus citokinek felszabadulása is megelőzheti a tünetek megjelenését, így korai jele lehet az orbita érintettségének Graves-Basedow-kórban.

Az alábbi eredményeink alátámasztják a feltételezést, hogy az EOP esetén megemelkedett citokin release nem csupán a csökkent könnytermelés következménye. Míg a könnytermelés és minden vizsgált citokin release értéke a kontroll csoportban erős pozitív korrelációt mutatott, addig sem az EOP, sem a GB csoportban nem találtunk összefüggést egyik citokin vonatkozásában sem a Schirmer teszt eredményével. Nem találtunk tehát összefüggést a megemelkedett citokin release és a csökkent könnytermelés között. Éppen ellenkezőleg, bár a könnytermelés mennyisége mind EOP mind GB kór esetén csökken, a citokin felszabadulás mértéke mégis emelkedett, feltételezhetően az autoimmun folyamat következményeként. A citokinek könnybe való felszabadulása folyamatos, nem preformált citokin szekrécióról van szó, mivel ismert, hogy az egészséges könny citokin tartalma is diurnális változást követ a nap folyamán (102). Mindez alátámasztja azt a feltételezésünket, hogy a klinikai aktivitással jól korreláló, EOP esetén szignifikánsan megemelkedő IL-6 release a könnyben nem a szemszárazság, hanem valóban az immunológiai aktivitás indikátora.

Az IL-13 egy T helper-2 citokin, melynek főként az IgE mediált immunitásban van szerepe. Krónikus szemfelszíni gyulladás esetén, különösen, ha ahhoz a szaruhártya érintettsége (keratopathia) is társul, a könnyben az IL-13 és eotaxin-1 szintje megemelkedik (127). A Graves-Basedow kóros betegek mintegy harminc százalékában, a szérum IgE szintje megemelkedett, illetve a betegek közel harmadánál a Th-2 lymphocyták fokozott IL-13 szekréciója is megfigyelhető (128). Vizsgálataink során az EOP betegek könnyében észlelt emelkedett IL-13 release összefüggésben lehet az ilyen betegekre jellemző magasabb szérumszinttel. Valószínűbb azonban az a feltételezés, hogy a szemfelszíni és szaruhártya érintettség következtében alakult ki. Bár a vizsgálatban nem vettek részt olyan betegek, akiknél a szaruhártyán nagy nagyítással hámszárazság, vagy fluorescein festődés volt megfigyelhető (ezeket a pácienseket még könnygyűjtés előtt kizártuk a vizsgálatból, lásd 4.2.2 pont), de a korábbiakból következik, hogy EOP esetén klinikai tünetek hiányában is számolnunk kell szemfelszíni károsodással, hiszen maga az autoimmun folyamat is érinti a szem elülső szegmentumát (121).

Az eddig említett és vizsgált összes marker vonatkozásában (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-17A, IL-13 és RANTES) megfigyeltük, hogy release értékük az EOP csoportban a kontrollcsoportnál szignifikánsan magasabb volt. Ugyanakkor sem az EOP betegek és a Graves-Basedow kóros páciensek, sem a Graves-Basedow kóros páciensek és a kontrollcsoport között nem találtunk szignifikáns eltérést egyik citokin release értékében sem. Megfigyeltük azonban, hogy minden vizsgált paraméter esetén a release érték a GB csoportban intermediér

értéket mutatott az EOP és a kontrollcsoport értékei között (3. táblázat, 6. ábra). Azt feltételezzük, Gupta (120) valamint Gurdal (126) és munkatársaival egyetértésben, hogy az autoimmun folyamat magát a kötőhártyát és a szemfelszín egyéb szöveteit is érinti. A GB csoportban kapott „köztes” release értékek pedig annak következményei, hogy a Graves-Basedow kóros páciensek között voltak olyanok, akiknek a vizsgálat időpontjában még nem volt orbitopathiája, nem voltak klinikai tüneteik vagy detektálható elváltozásuk, de az orbita kötőszövetei és a könnymirigy már érintett volt („szubklinikus EOP”). Ezt a feltételezésünket alátámasztani klinikai vizsgálattal nem tudjuk, mert orbita érintettségre utaló jel vagy tünet nélkül Graves-Basedow kórban nem végzünk képalkotó vizsgálatot. Irodalmi adatok szerint a szubklinikus orbita érintettség nem ritka, a Graves-Basedow kóros betegek közel 70%-ában írtak le külső szemizom megvastagodást (129). Feltételezéseink szerint egyes esetekben a szubklinikus orbita érintettség Graves-Basedow kórban nem manifesztálódik, míg más esetekben valódi endokrin orbitopathia alakul ki, az arra jellemző kötőszöveti átalakulással, mely a könnyben is reprezentálódik.

PAI-1 release tekintetében szignifikáns emelkedést találtunk, mind az EOP, mind a GB csoportban a kontrollokhoz viszonyítva (3. táblázat, 6. ábra). Az általunk vizsgált markerek közül a PAI-1 volt az egyetlen, ahol a könnybe való release vonatkozásában a GB és kontroll csoport között is tudtunk szignifikáns különbséget igazolni. A PAI-1 emelkedett szérumszintje Graves-Basedow kórban ismert (114). A PAI-1 feltételezéseink szerint a szöveti remodelling során betöltött szerepével (112) vesz részt a pathogenesisben, ez okozza a különbséget a GB és EOP csoport között, magyarázva az EOP-ban talált magasabb release értékeket. Erős pozitív korrelációt találtunk az összes vizsgált citokin és PAI-1 release vonatkozásában, mely alátámasztja a citokinek PAI-1 génexpresszióra gyakorolt hatását (115). Az EOP aktivitását tekintve, hasonlóan az IL-6 release-hez, PAI-1 release vonatkozásában is korrelációt találtunk a CAS értékkel. Jelenleg azonban nem feltételezzük, hogy a PAI-1 release a könnyben a betegség aktivitásának indikátora lenne. A PAI-1 szerepe a szemfelszín homeosztázisának fenntartásában ismert és fontos szerepet játszik (130). Ennek megfelelően úgy véljük, hogy az általunk mind Graves-Basedow kórban, mind EOP esetén talált szignifikánsan magasabb PAI-1 release a könnyben a szemfelszínen zajló korábban ismertetett folyamatok eredménye. Az elülső szegmentum érintettség ezen tüneteinek jelennek meg a CAS-ban, ez magyarázza a talált összefüggést. A GB csoportban talált, szignifikáns PAI-1 release emelkedés pedig valószínűleg a korábban részletezett szubklinikus orbita betegség következménye.

A dohányzás az endokrin orbitopathia jól ismert befolyásolható rizikófaktor (22). Már a passzív dohányzás is emeli a könnyfilm proinflammatorikus citokin tartalmát (110). Ugyanilyen változásokat figyeltek meg mind egészséges dohányosok, mind endokrin orbitopathiás betegek könnyében (111). Ezzel ellentétben vizsgálataink során nem találtunk összefüggést a dohányzás és a könny citokin tartalma között. Nem volt összefüggés sem az EOP, sem a GB csoportban sem az elszívott cigaretták számára, sem a dohányzás tényére (igen/nem) vonatkozóan. Abban az esetben sem találtunk a dohányzás és a citokin release vonatkozásában összefüggést, ha az összes beteget egy csoportként vetettük össze a dohányzási adatokkal, függetlenül az EOP vagy a GB kór meglététől. Ehhez hasonlóan Salvi és munkatársai sem tudták igazolni a dohányzás hatását a szérum IL-6, TNF- α valamint IL-1 β koncentrációjára (31).

Eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy endokrin orbitopathiában a könnyfilm citokin összetétele megváltozik, az általunk vizsgált paraméterek (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-17A, IL-13 és RANTES) szekréciója megemelkedik. A PAI-1 release mind endokrin orbitopathiás, mind Graves-Basedow kóros páciensek könnyében magasabb, alátámasztva a megfigyelést, hogy klinikailag detektálható szemtünetek nélküli esetekben is számolni kell „szubklinikus” orbita érintettséggel Graves-Basedow kórban. Ismereteink szerint munkacsoportunk előtt korábban nem végeztek tanulmányokat az EOP betegek könnyfilmjének citokin tartalmáról. Igazoltuk, hogy a könnyben mért IL-6 release és a mindennapi gyakorlatban aktivitás megítélésére használt CAS érték egymással összefügg, így a könny IL-6 release mérése az aktivitás indikátora lehet endokrin orbitopathiában.

Konklúzióként levonhatjuk, hogy mind a képalkotó eljárások, mind a laboratóriumi paraméterek között sikerült olyan új módszert találnunk, mely hasznos lehet az endokrin orbitopathia aktivitásának megítélésében. A ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálat napjainkban már a klinikai gyakorlat számára is elérhető és hasznos objektív segítséget nyújt a corticosteroid kezelés indikációjának felállításához az endokrinológusok és az elektív műtétes beavatkozást tervező szemészek számára. A könnyfilm vizsgálata a molekuláris biológia technikáinak fejlődésével egyre egyszerűbbé és elérhetőbbé válik. Egy mindennapi gyakorlat számára elérhető módszer kidolgozása azonban még további vizsgálatokat igényel és a jövő kutatásainak feladata.

7. Az új eredmények összefoglalása

7.1. A ^{99m}Tc -DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében

- I. Igazoltuk, hogy a ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálat alkalmas az immunosuppresszív kezelés várható hatásának előrejelzésére endokrin orbitopathiában.
- II. Meghatároztuk az egészséges orbita, azaz a ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálat normál felvett aktivitás értékének felső határát, mely 12.28MBq/cm^3 -nek adódott.
- III. Meghatároztuk azt a felvett aktivitás értéket, mely felett az immunosuppresszív kezeléstől valódi terápiás eredmény várható, azaz az endokrin orbitopathia immunológiaiilag aktívnek tekintendő.

7.2. A könny citokin-, kemokin- és PAI-1- tartalmának meghatározása EOP és Graves-Basedow kór esetén

- I. Igazoltuk, hogy a vizsgált citokinek és kemokin release értéke megemelkedik az EOP betegek könnyében.
- II. Megfigyeltük, hogy a vizsgált paraméterek Graves-Basedow kóros páciensek könnyében is emelkedett tendenciát mutatnak. PAI-1 vonatkozásában ez az emelkedés a kontrollcsoporthoz képest elérte a statisztikai szignifikancia határát. Ezzel alátámasztottuk az orbita szubklinikus érintettségének elméletét szemtünetek nélküli Graves-Basedow kórban.
- III. Igazoltuk, hogy a csökkent könnytermelés nincs hatással a könnyfilm citokin tartalmára EOP esetén, a bekövetkező változások a könnymirigyben és szemfelszínen zajló folyamat következményei.
- IV. Összefüggést találtunk a betegség immunológiai aktivitását jellemző CAS és a könnyben mért IL-6 release között. Ez alapján feltételezzük, hogy az IL-6 release az aktivitás indikátora endokrin orbitopathiában.

8. Summary

Graves' orbitopathy (GO) is an autoimmune disorder characterized by the inflammation of retrobulbar ocular connective tissues and extraocular eye muscles. It is associated with autoimmune thyroid disorders, especially but not exclusively with Graves' disease (GD) and has serious impact on the quality of life of the patients. The exact pathogenesis of the disease is still obscure, as there is no defined auto-antigen responsible for the disease. Recommended therapy depends on the immunological activity of GO. In active phase, patients should receive prompt immunosuppressive treatment that can prevent the development or worsening of serious eye symptoms. In the inactive, fibrotic stage reconstructive and esthetic surgical procedures can be planned. Immunosuppression in inactive phase has no benefit but has the risks of side effects. Eyelid or squint surgery has to be postponed until the inactive phase, otherwise can lead to unpredictable functional and esthetic results. For these purposes the evaluation of disease activity in GO is essential. Several methods have been established to estimate disease activity, yet none of them has become generally accepted. For everyday routine Clinical Activity Score can be evaluated, but it also has several disadvantages.

In the thesis the author presents two possible new techniques for GO activity evaluation. In the first part a series of investigations is presented using orbital DTPA SPECT which has been shown to be appropriate in the estimation of GO activity. The DTPA uptake of the healthy orbital tissue has been defined. It has been verified that DTPA SPECT may predict the effectiveness of immunosuppressive therapy. Patients with DTPA scores above 12.28MBq/cm^3 are more likely to respond to corticosteroid therapy, and the autoimmune process in orbits with this or higher values are considered active.

In the second part tear cytokine and PAI-1 studies are presented on patients with GO and GD. We are not aware of any previous studies on cytokines and PAI-1 in tears of patients with Graves' disease. The present findings demonstrate that Graves' orbitopathy results in changes in the cytokine profile of the tear film. An elevation had been found of the pro-inflammatory cytokines in the tears of patients with GO. Similar tendency in GD patients' tears were observed for both the examined cytokines and PAI-1. This supports the notion that some GD patients have subclinical orbital disease. A correlation between disease activity in GO and IL-6 release in tears has been found; high IL-6 release in tears may serve as a useful indicator of disease activity.

9. A tudományos eredmények hasznosíthatósága

Az endokrin orbitopathia egy a páciensek életminőségét jelentősen rontó kórkép. A pajzsmirigybetegekhez társuló retrobulbaris autoimmun gyulladás pathogenesis jelenleg sem pontosan ismert. A terápiás lehetőségek tárháza a betegség immunológiai aktív és inaktív szakában eltérő. Az aktív szakban végzendő az immunosuppresszív kezelés, mely - optimális időpontban végezve - a későbbi súlyos szentünetek egy részének kialakulását megelőzheti. A visszamaradt nagyfokú exophthalmus, kettőslátás, szemhéjzárási nehezítettség műtéti korrekciója az inaktív szakban javasolt. Az inaktív szakban végzett immunosuppresszív kezelés hatástalan, csupán az esetleges mellékhatásoknak teszi ki a páciens. Az aktív szakban végzett szemizom vagy szemhéj korrekciós műtét eredményessége mind esztétikai, mind funkcionális szempontból bizonytalan.

A terápiaválasztás kulcskérdése tehát az immunológiai aktivitás megítélése a megfelelő terápiás döntéshez. Jelenleg egyik elterjedt módszer sem tökéletesen alkalmazható az aktivitás megítélésére.

Az értekezés összefoglalja két olyan vizsgálatsorozat eredményét, melyek új potenciális eljárások hasznosságát igazolták az endokrin orbitopathia aktivitásának megítélésére.

Az első részben ismertetett ^{99m}Tc DTPA SPECT vizsgálat napjainkra már a klinikai gyakorlat számára is elérhetővé vált. A tudományos munka eredményeként meghatároztuk azt az úgynevezett felvett aktivitás értéket, mely felett a vizsgált endokrin orbitopathiás beteg nagy valószínűséggel aktív, így jól reagál majd az immunosuppresszív kezelésre.

A második rész a könny vizsgálatára összpontosít. Igazoltuk, hogy van olyan paraméter az endokrin orbitopathiás betegek könnyében, mely összefüggést mutat az immunológiai aktivitással. Megállapítottuk, hogy mind az EOP, mind a Graves-Basedow kóros páciensek könnyfilmje eltérő az egészségesekétől citokin és PAI-1 release vonatkozásában. A kísérletsorozat egy esetleges klinikai gyakorlat számára is elérhető módszer kidolgozásának előfutára lehet, mely a betegek és kezelőorvosaik számára egy gyors és non-invazív diagnosztikai eljárást eredményez.

10. Irodalomjegyzék

1. Parry C, H 1825 Enlargement of the thyroid gland in connection with enlargement or palpitation of the heart. Underwood, London.
2. Graves R 1835 Newly observed affection of the thyroid: clinical lectures. Lond Med Surg J, 7: 516-517.
3. von Basedow K 1840 Exophthalmos durch Hypertrophie des Zellgewebes in der Augenhöhle. Wochenschr Heilkunde 6: 197-204.
4. Burch HB, Wartofsky L 1993 Graves ophthalmopathy - Current concepts regarding pathogenesis and management. Endocrine Reviews 14:747-793.
5. Wiersinga WM, Bartalena L 2002 Epidemiology and prevention of Graves' ophthalmopathy. Thyroid 12:855-860.
6. Bartalena L, Pinchera A, Marcocci C 2000 Management of Graves' ophthalmopathy: Reality and perspectives. Endocrine Reviews 21:168-199.
7. Solomon DH, Chopra IJ, Chopra U, Smith FJ 1977 Identification of subgroups of euthyroid Graves ophthalmopathy. New England Journal of Medicine 296:181-186.
8. Marcocci C, Bartalena L, Bogazzi F, Panicucci M, Pinchera A 1989 Studies on the occurrence of ophthalmopathy in Graves disease. Acta Endocrinologica 120:473-478.
9. Wiersinga WM, Smit T, Vandergaag R, Koornneef L 1988 Temporal relationship between onset of Graves' ophthalmopathy and onset of the thyroidal Graves-disease. Journal of Endocrinological Investigation 11:615-619.
10. Bartley GB, Fatourechi V, Kadrmas EF, Jacobsen SJ, Ilstrup DM, Garrity JA, Gorman CA 1995 The incidence of Graves' ophthalmopathy in Olmsted county, Minnesota. American Journal of Ophthalmology 120:511-517.
11. Tsai CC, Kau HC, Kao SC, Hsu WM 2006 Exophthalmos of patients with Graves' disease in Chinese of Taiwan. Eye 20:569-573.
12. Tellez M, Cooper J, Edmonds C 1992 Graves' ophthalmopathy in relation to cigarette-smoking and ethnic-origin. Clinical Endocrinology 36:291-294.
13. Baujat B, Krastinova D, Bach CA, Coquille F, Chabolle F 2006 Orbital morphology in exophthalmos and exorbitism. Plastic and Reconstructive Surgery 117:542-550.
14. Chen PL, Fann CSJ, Chu CC, Chang CC, Chang SW, Hsieh HY, Lin M, Yang WS, Chang TC 2011 Comprehensive Genotyping in Two Homogeneous Graves' Disease Samples Reveals Major and Novel HLA Association Alleles. Plos One 6:10.
15. Mao RF, Fan YH, Zuo LL, Geng DF, Meng FT, Zhu J, Li QA, Qiao H, Jin Y, Bai J, Fu SB 2010 Association study between methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and Graves' disease. Cell Biochemistry and Function 28:585-590.
16. Lins TC, Vieira RG, Grattapaglia D, Pereira RW 2010 Allele and haplotype frequency distribution in PTPN22 gene across variable ethnic groups: Implications for genetic association studies for autoimmune diseases. Autoimmunity 43:308-316.
17. Chu X, Dong Y, Shen M, Sun LL, Dong CZ, Wang Y, Wang BL, Zhang KY, Hua Q, Xu SJ, Huang W 2009 Polymorphisms in the ADRB2 gene and Graves disease: a case-control study and a meta-analysis of available evidence. BMC Medical Genetics 10.
18. Alevizaki M, Mantzou E, Cimponeriu A, Saltiki K, Philippou G, Wiersinga W 2009 The Pro(12)Ala PPAR gamma gene polymorphism: possible modifier of the activity and severity of thyroid-associated orbitopathy (TAO). Clinical Endocrinology 70:464-468.
19. Anvari M, Khalilzadeh O, Esteghamati A, Esfahani SA, Rashidi A, Etemadi A, Mahmoudi M, Amirzargar AA 2010 Genetic susceptibility to Graves'

- ophthalmopathy: the role of polymorphisms in proinflammatory cytokine genes. *Eye* **24**:1058-1063.
20. Liu YH, Chen RH, Wu HH, Liao WL, Chen WC, Tsai YH, Tsai CH, Wan L, Tsai FJ 2010 Association of Interleukin-1 beta (IL1B) Polymorphisms with Graves' Ophthalmopathy in Taiwan Chinese Patients. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **51**:6238-6246.
 21. Szucs-Farkas Z, Toth J, Kollar J, Galuska L, Burman KD, Boda J, Leovey A, Varga J, Ujhelyi B, Szabo J, Berta A, Nagy EV 2005 Volume changes in intra- and extraorbital compartments in patients with Graves' ophthalmopathy: Effect of smoking. *Thyroid* **15**:146-151.
 22. Stan MN, Bahn RS 2010 Risk Factors for Development or Deterioration of Graves' Ophthalmopathy. *Thyroid* **20**:777-783.
 23. Traisk F, Tallstedt L, Abraham-Nordling M, Andersson T, Berg G, Calissendorff J, Hallengren B, Hedner P, Lantz M, Nystrom E, Ponjavic V, Taube A, Topping O, Wallin G, Asman P, Lundell G, Thyroid Study Grp TT 2009 Thyroid-Associated Ophthalmopathy after Treatment for Graves' Hyperthyroidism with Antithyroid Drugs or Iodine-131. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **94**:3700-3707.
 24. Prummel MF, Wiersinga WM, Mourits MP, Koornneef L, Berghout A, Vandergaag R 1990 Effect of abnormal thyroid-function on the severity of Graves' ophthalmopathy. *Archives of Internal Medicine* **150**:1098-1101.
 25. Davies TF 1995 Seeing T-cells behind the eye. *European Journal of Endocrinology* **132**:264-265.
 26. Wiersinga WM 2011 Autoimmunity in Graves' Ophthalmopathy: The Result of an Unfortunate Marriage Between TSH Receptors and IGF-1 Receptors? *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **96**:2386-2394.
 27. Kaspar M, Archibald C, De Bellis AM, Li AW, Yamada M, Chang CH, Kahaly G, Wall JR 2002 Eye muscle antibodies and subtype of thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* **12**:187-191.
 28. Wescombe L, Lahooti H, Gopinath B, Wall JR 2010 The cardiac calsequestrin gene (CASQ2) is up-regulated in the thyroid in patients with Graves' ophthalmopathy - support for a role of autoimmunity against calsequestrin as the triggering event. *Clinical Endocrinology* **73**:522-528.
 29. Burch HB, Barnes S, Nagy EV, Sellitti D, Burman KD, Bahn RS, Lahiri S 1998 Immunodetection of manganese superoxide dismutase in cultured human retroocular fibroblasts using sera directed against the thyrotropin receptor. *Journal of Endocrinological Investigation* **21**:48-55.
 30. Wakelkamp I, Gerding MN, Van Der Meer JWC, Prummel MF, Wiersinga WM 2000 Both Th1-and Th2-derived cytokines in serum are elevated in Graves' ophthalmopathy. *Clinical and Experimental Immunology* **121**:453-457.
 31. Salvi M, Pedrazzoni M, Girasole G, Giuliani N, Minelli R, Wall JR, Roti E 2000 Serum concentrations of proinflammatory cytokines in Graves' disease: effect of treatment, thyroid function, ophthalmopathy and cigarette smoking. *European Journal of Endocrinology* **143**:197-202.
 32. Bahn RS, Heufelder AE 1993 Mechanism of disease - pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *New England Journal of Medicine* **329**:1468-1475.
 33. Kroll A, J, Kuwabara T 1966 Dythyroid ocular myopathy: anatomy, histology and electron microscopy. Vol 76, *Arch Ophthalmol*, 244-247.
 34. Feldon SE, Park DJJ, O'Loughlin CW, Nguyen VT, Landskroner-Eiger S, Chang D, Thatcher TH, Phipps RP 2005 Autologous T-lymphocytes stimulate proliferation of

- orbital fibroblasts derived from patients with Graves' ophthalmopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **46**:3913-3921.
35. Sempowski GD, Rozenblit J, Smith TJ, Phipps RP 1998 Human orbital fibroblasts are activated through CD40 to induce proinflammatory cytokine production. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **274**:C707-C714.
 36. Korducki JM, Loftus SJ, Bahn RS 1992 Stimulation of glycosaminoglycon production in cultured human retroocular fibroblasts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **33**:2037-2042.
 37. Kumar S, Bahn RS 2003 Relative overexpression of macrophage-derived cytokines in orbital adipose tissue from patients with Graves' ophthalmopathy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **88**:4246-4250.
 38. Cawood TJ, Moriarty P, O'Farrelly C, O'Shea D 2006 The effects of tumour necrosis factor-alpha and interleukin1 on an in vitro model of thyroid-associated ophthalmopathy; contrasting effects on adipogenesis. *European Journal of Endocrinology* **155**:395-403.
 39. Gianoukakis AG, Khadavi N, Smith TJ 2008 Cytokines, Graves' disease, and thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* **18**:953-958.
 40. Hales IB, Rundle FF 1960 Ocular Changes in Graves' disease. A long-term follow-up study. Vol 29, *Q J Med*, 113-126.
 41. Xia N, Zhou SX, Liang YZ, Xiao CQ, Shen HL, Pan HL, Deng HM, Wang NZ, Li QDQ 2006 CD4(+) T cells and the Th1/Th2 imbalance are implicated in the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *International Journal of Molecular Medicine* **17**:911-916.
 42. Gerding MN, Terwee CB, Dekker FW, Koornneef L, Prummel MF, Wiersinga WM 1997 Quality of life in patients with Graves' ophthalmopathy is markedly decreased: Measurement by the medical outcomes study instrument. *Thyroid* **7**:885-889.
 43. Kahaly GJ, Petrak F, Hardt J, Pitz S, Egle UT 2005 Psychosocial morbidity of Graves' orbitopathy. *Clinical Endocrinology* **63**:395-402.
 44. Bartley GB, Fatourechi V, Kadrmas EF, Jacobsen SJ, Ilstrup DM, Garrity JA, Gorman CA 1996 Clinical features of Graves' ophthalmopathy in an incidence cohort. *American Journal of Ophthalmology* **121**:284-290.
 45. Asman P 2003 Ophthalmological evaluation in thyroid-associated ophthalmopathy. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* **81**:437-448.
 46. Gay A, J, Wolkstein M, A 1966 Topical guanethidine therapy for endocrine lid retraction. Vol 76, *Arch Ophthalmol*, 364-367.
 47. Cockerham KP, Hidayat AA, Brown HG, Cockerham GC, Graner SR 2002 Clinicopathologic evaluation of the Mueller muscle in thyroid-associated orbitopathy. *Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery* **18**:11-17.
 48. Wiersinga WM, Smit T, Vandergaag R, Mourits M, Koornneef L 1989 Clinical presentation of Graves' ophthalmopathy. *Ophthalmic Research* **21**:73-82.
 49. Migliori ME, Gladstone GJ 1984 Determination of the normal range of exophthalmometric values for black and white adults. *American Journal of Ophthalmology* **98**:438-442.
 50. Amino N, Yuasa T, Yabu Y, Miyai K, Kumahara Y 1980 Exophthalmos in autoimmune thyroid disease. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **51**:1232-1234.
 51. Nagy EV, Toth J, Kaldi I, Damjanovich J, Mezosi E, Lenkey A, Toth L, Szabo J, Karanyi Z, Leovey A 2000 Graves' ophthalmopathy: eye muscle involvement in patients with diplopia. *European Journal of Endocrinology* **142**:591-597.

52. Feldon SE, Weiner JM 1982 Clinical-significance of extra-ocular muscle volumes in Graves' ophthalmopathy - A quantitative computed-tomography study. *Archives of Ophthalmology* **100**:1266-1269.
53. Trobe JD 1981 Optic-nerve involvement in dysthyroidism. *Ophthalmology* **88**:488-492.
54. Salvi M, Spaggiari E, Neri F, Macaluso C, Gardini E, Ferrozzi F, Minelli R, Wall JR, Roti E 1997 The study of visual evoked potentials in patients with thyroid-associated ophthalmopathy identifies asymptomatic optic nerve involvement. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **82**:1027-1030.
55. Werner SC 1977 Modification of classification of eye changes of Graves' disease - recommendations of ad hoc committee of American Thyroid Association. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **44**:203-204.
56. Bartalena L, Baldeschi L, Dickinson AJ, Eckstein A, Kendall-Taylor P, Marcocci C, Mourits MP, Perros P, Boboridis K, Boschi A, Curro N, Daumerie C, Kahaly GJ, Krassas G, Lane CM, Lazarus JH, Marino M, Nardi M, Neoh C, Orgiazzi J, Pearce S, Pinchera A, Pitz S, Salvi M, Sivelli P, Stahl M, von Arx G, Wiersinga WM 2008 Consensus statement of the European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) on management of Graves' Orbitopathy. *Thyroid* **18**:333-346.
57. Bartalena L 2010 What to do for moderate-to-severe and active Graves' orbitopathy if glucocorticoids fail? *Clinical Endocrinology* **73**:149-152.
58. Salvi M, Vannucchi G, Campi I, Curro N, Dazzi D, Simonetta S, Bonara P, Rossi S, Sina C, Guastella C, Ratiglia R, Beck-Peccoz P 2007 Treatment of Graves' disease and associated ophthalmopathy with the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab: an open study. *European Journal of Endocrinology* **156**:33-40.
59. Paridaens D, van den Bosch WA, van der Loos TL, Krenning EP, van Hagen PM 2005 The effect of etanercept on Graves' ophthalmopathy: a pilot study. *Eye* **19**:1286-1289.
60. Marcocci C, Bartalena L, Panicucci M, Marconcini C, Cartei F, Cavallacci G, Laddaga M, Campobasso G, Baschieri L, Pinchera A 1987 Orbital cobalt irradiation combined with retrobulbar or systemic corticosteroids for Graves' ophthalmopathy - A comparative study. *Clinical Endocrinology* **27**:33-42.
61. Kahaly GJ, Pitz S, Hommel G, Dittmar M 2005 Randomized, single blind trial of intravenous versus oral steroid monotherapy in graves' orbitopathy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **90**:5234-5240.
62. Prummel MF, Terwee CB, Gerding MN, Baldeschi L, Mourits MP, Blank L, Dekker FW, Wiersinga WM 2004 A randomized controlled trial of orbital radiotherapy versus sham irradiation in patients with mild Graves' ophthalmopathy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **89**:15-20.
63. Bartalena L, Marcocci C, Tanda ML, Rocchi R, Mazzi B, Barbesino G, Pinchera A 2002 Orbital radiotherapy for Graves' ophthalmopathy. *Thyroid* **12**:245-250.
64. Marcocci C, Bartalena L, Bogazzi F, Brunobossio G, Lepri A, Pinchera A 1991 Orbital radiotherapy combined with high-dose systemic glucocorticoids for Graves' ophthalmopathy is more effective than radiotherapy alone - results of a prospective randomized study. *Journal of Endocrinological Investigation* **14**:853-860.
65. Viebahn M, Barricks ME, Osterloh MD 1991 Synergism between diabetic and radiation retinopathy - a case-report and review. *British Journal of Ophthalmology* **75**:629-632.
66. Khurana AK, Sunder S, Ahluwalia BK, Malhotra KC 1992 Tear film profile in Graves ophthalmopathy. *Acta Ophthalmologica* **70**:346-349.

67. Gilbard JP, Farris RL 1983 Ocular surface drying and tear film osmolarity in thyroid eye disease. *Acta Ophthalmologica* **61**:108-116.
68. Baldeschi L, Wakelkamp I, Lindeboom R, Prummel MF, Wiersinga WM 2006 Early versus late orbital decompression in graves' orbitopathy - A retrospective study in 125 patients. *Ophthalmology* **113**:874-878.
69. Wakelkamp I, Baldeschi L, Saeed P, Mourits MP, Prummel MF, Wiersinga WM 2005 Surgical or medical decompression as a first-line treatment of optic neuropathy in Graves' ophthalmopathy? A randomized controlled trial. *Clinical Endocrinology* **63**:323-328.
70. Mourits MP, Bijl H, Altea MA, Baldeschi L, Boboridis K, Curro N, Dickinson AJ, Eckstein A, Freidel M, Guastella C, Kahaly GJ, Kalmann R, Krassas GE, Lane CM, Lareida J, Marcocci C, Marino M, Nardi M, Mohr C, Neoh C, Pinchera A, Orgiazzi J, Pitz S, Saeed P, Salvi M, Sellari-Franceschini S, Stahl M, von Arx G, Wiersinga WM, Eugogo 2009 Outcome of orbital decompression for disfiguring proptosis in patients with Graves' orbitopathy using various surgical procedures. *British Journal of Ophthalmology* **93**:1518-1523.
71. Mourits MP, Prummel MF, Wiersinga WM, Koornneef L 1997 Clinical activity score as a guide in the management of patients with Graves' ophthalmopathy. *Clinical Endocrinology* **47**:9-14.
72. Wiersinga WM, Perros P, Kahaly GJ, Mourits MP, Baldeschi L, Boboridis K, Boschi A, Dickinson AJ, Kendall-Taylor P, Krassas GE, Lane CM, Lazarus JH, Marcocci C, Marino M, Nardi M, Neoh C, Orgiazzi J, Pinchera A, Pitz S, Prummel MF, Sartini MS, Stahl M, von Arx G, European Grp Graves Orbitopathy EU 2006 Clinical assessment of patients with Graves' orbitopathy: the European Group on Graves' Orbitopathy recommendations to generalists, specialists and clinical researchers. *European Journal of Endocrinology* **155**:387-389.
73. Kahaly G, Forster G, Hansen C 1998 Glycosaminoglycans in thyroid eye disease. *Thyroid* **8**:429-432.
74. Salvi M, Girasole G, Pedrazzoni M, Passeri M, Giuliani N, Minelli R, Braverman LE, Roti E 1996 Increased serum concentrations of interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor in patients with Graves' disease. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **81**:2976-2979.
75. Terwee CB, Prummel MF, Gerding MN, Kahaly GJ, Dekker FW, Wiersinga WM 2005 Measuring disease activity to predict therapeutic outcome in Graves' ophthalmopathy. *Clinical Endocrinology* **62**:145-155.
76. Utech CI, Khatibnia U, Winter PF, Wulle KG 1995 MR T2 relaxation time for the assesement of retrobulbar inflammation is Graves Ophthalmopathy. *Thyroid* **5**:185-193.
77. Szucs-Farkas Z, Toth J, Balazs E, Galuska L, Burman KD, Karanyi Z, Leovey A, Nagy EV 2002 Using morphologic parameters of extraocular muscles for diagnosis and follow-up of Graves' ophthalmopathy: Diameters, areas, or volumes? *American Journal of Roentgenology* **179**.
78. Kahaly GJ 2004 Recent developments in Graves' ophthalmopathy imaging. *Journal of Endocrinological Investigation* **27**:254-258.
79. Prummel MF, Suttorschulten MSA, Wiersinga WM, Verbeek AM, Mourits MP, Koornneef L 1993 A new ultrasonographic method to detect disease-activity and predict response to immunosuppressive treatment in Graves ophthalmopathy. *Ophthalmology* **100**:556-561.
80. Postema PTE, Krenning EP, Wijngaarde R, Kooy PPM, Oei HY, Vandenbosch WA, Reubi JC, Wiersinga WM, Hooijkaas H, Vanderloos T, Poublon RML, Lamberts

- SWJ, Hennemann G 1994 ¹¹¹In Octreotide scintigraphy in thyroidal and orbital Graves-disease - A parameter for disease activity. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **79**:1845-1851.
81. Krassas GE 2002 Octreoscan in thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* **12**:229-231.
 82. Ortapamuk H, Hosal B, Naldoken S 2002 The role of Tc-99m polyclonal human immunoglobulin G scintigraphy in Graves' ophthalmopathy. *Annals of Nuclear Medicine* **16**:461-465.
 83. Burggasser G, Hurlt I, Hauff W, Lukas J, Greifeneder M, Heydari B, Thaler A, Wedrich A, Virgolini I 2003 Orbital scintigraphy with the somatostatin receptor tracer Tc-99m-P829 in patients with Graves' disease. *Journal of Nuclear Medicine* **44**:1547-1555.
 84. Konuk O, Atasever T, Unal M, Ayvaz G, Yetkin H, Cakir N, Arslan M, Hasanreisoglu B 2005 Orbital gallium-67 scintigraphy in Graves' ophthalmopathy: A disease activity parameter that predicts the therapeutic response to immunosuppressive treatment. *Thyroid* **15**:358-363.
 85. Sun H, Jiang XF, Wang S, Chen HY, Sun J, Li PY, Ning G, Zhao YJ 2007 99(m)Tc-HYNIC-TOC scintigraphy in evaluation of active Graves' ophthalmopathy (GO). *Endocrine* **31**:305-310.
 86. Reyhan M, Toygar O, Sukan A, Seydaoglu G, Bakiner OS, Aydin M, Yapar AF, Aktas A 2007 Tc-99m(V)-DMSA SPECT for the assessment of disease activity in Graves' ophthalmopathy. *Nuclear Medicine Communications* **28**:775-781.
 87. Galuska L, Leovey A, Szucs-Farkas Z, Gara I, Szabo J, Varga J, Nagy EV 2002 SPECT using Tc-99m-DTPA for the assessment of disease activity in Graves' ophthalmopathy: a comparison with the results from MRI. *Nuclear Medicine Communications* **23**:1211-1216.
 88. Rinderknecht J, Shapiro L, Krauthammer M, Taplin G, Wasserman K, Uszler JM, Effros RM 1980 Accelerated clearance of small solutes from the lungs in interstitial lung-disease. *American Review of Respiratory Disease* **121**:105-117.
 89. Galuska L, Leovey A, Szucs-Farkas Z, Szabados L, Garai I, Berta A, Balazs E, Varga J, Nagy EV 2005 Imaging of disease activity in Graves' orbitopathy with different methods: comparison of Tc-99m-DTPA and Tc-99m-depreotide single photon emission tomography, magnetic resonance imaging and clinical activity scores. *Nuclear Medicine Communications* **26**:407-414.
 90. Cavusoglu T, Nurozler AB, Titiz C, Ustun H, Aral Y, Ozer E, Kasim R, Tezel S 2007 Tear function and ocular surface changes in multinodular goiter patients. *Ophthalmologica* **221**:264-268.
 91. Khalil HA, Dekeizer RJW, Kijlstra A 1988 Analysis of tear proteins in Graves ophthalmopathy by high-performance liquid-chromatography. *American Journal of Ophthalmology* **106**:186-190.
 92. Okrojek R, Grus FH, Matheis N, Kahaly GJ 2009 Proteomics in Autoimmune Thyroid Eye Disease. *Hormone and Metabolic Research* **41**:465-470.
 93. Chang TC, Huang KM, Chang TJ, Lin SL 1990 Correlation of orbital computed-tomography and antibodies in patients with hyperthyroid Graves-disease. *Clinical Endocrinology* **32**:551-558.
 94. Eckstein AK, Finkenrath A, Heiligenhaus A, Renzing-Kohler K, Esser J, Kruger C, Quadbeck B, Steuhl KP, Gieseler RK 2004 Dry eye syndrome in thyroid-associated ophthalmopathy: lacrimal expression of TSH receptor suggests involvement of TSHR-specific autoantibodies. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* **82**:291-297.

95. Dias AC, Modulo CM, Jorge AG, Braz AM, Jordao AA, Bertazolli R, de Paula JS, Rocha EM 2007 Influence of thyroid hormone on thyroid hormone receptor beta-1 expression and lacrimal gland and ocular surface morphology. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **48**:3038-3042.
96. Moncayo R, Baldissera I, Decristoforo C, Kendler D, Donnemiller E 1997 Evaluation of immunological mechanisms mediating thyroid-associated ophthalmopathy by radionuclide imaging using the somatostatin analog In-111-octreotide. *Thyroid* **7**:21-29.
97. Kainz H, Bale R, Donnemiller E, Gabriel M, Kovacs P, Decristoforo C, Moncayo R 2003 Image fusion analysis of Tc-99m-HYNIC-octreotide scintigraphy and CT/MRI in patients with thyroid-associated orbitopathy: the importance of the lacrimal gland. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* **30**:1155-1159.
98. Csiki Z, Garai I, Varga J, Szucs G, Galajda Z, Andras C, Zeher M, Galuska L 2005 Microcirculation of the fingers in Raynaud's syndrome Tc-99m-DTPA imaging. *Nuklearmedizin-Nuclear Medicine* **44**:29-32.
99. Galuska L, Varga J, Farkas ZS, Garai I, Boda J, Szabo J, Leovey A, Nagy EV 2003 Active retrobulbar inflammation in Graves' ophthalmopathy visualized by Tc-99m DTPA SPECT. *Clinical Nuclear Medicine* **28**:515-516.
100. Hiromatsu Y, Kojima K, Ishisaka N, Tanaka K, Sato M, Nonaka K, Nishimura H, Nishida H 1992 ROLE OF MAGNETIC-RESONANCE-IMAGING IN THYROID-ASSOCIATED OPHTHALMOPATHY - ITS PREDICTIVE VALUE FOR THERAPEUTIC OUTCOME OF IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY. *Thyroid* **2**:299-305.
101. Gerding MM, van der Zant FM, van Royen EA, Koornneef L, Krenning EP, Wiersinga WM, Prummel MF 1999 Octreotide-scintigraphy is a disease-activity parameter in Graves' ophthalmopathy. *Clinical Endocrinology* **50**:373-379.
102. Uchino E, Sonoda S, Kinukawa N, Sakamoto T 2006 Alteration pattern of tear cytokines during the course of a day: Diurnal rhythm analyzed by multicytokine assay. *Cytokine* **33**:36-40.
103. Uchino E, Sonoda S, Nakao K, Sakamoto T 2006 Alteration of tear cytokine balance by eye closure: analysis by multicytokine assay. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* **244**:747-749.
104. Fodor M, Facsko A, Rajnavolgyi E, Harsfalvi J, Bessenyei E, Kardos L, Berta A 2006 Enhanced release of IL-6 and IL-8 into tears in various anterior segment eye diseases. *Ophthalmic Research* **38**:182-188.
105. Leonardi A, Curnow SJ, Zhan H, Calder VL 2006 Multiple cytokines in human tear specimens in seasonal and chronic allergic eye disease and in conjunctival fibroblast cultures. *Clinical and Experimental Allergy* **36**:777-784.
106. Mrugacz M, Kaczmarek M, Bakunowicz-Lazarczyk A, Zelazowska B, Wysocka J, Minarowska A 2006 IL-8 and IFN-gamma in tear fluid of patients with cystic fibrosis. *Journal of Interferon and Cytokine Research* **26**:71-75.
107. Malvitte L, Montange T, Vejux A, Baudouin C, Bron AM, Creuzot-Garcher C, Lizard G 2007 Measurement of inflammatory cytokines by multicytokine assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs. *British Journal of Ophthalmology* **91**:29-32.
108. Pflugfelder SC, Jones D, Ji ZH, Afonso A, Monroy D 1999 Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjogren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Current Eye Research* **19**:201-211.
109. Araki H, Takamura E, Sinozaki K, Murata M, Nishi K, Hirokawa Y, Hori S 2005 Th1/Th2 cytokine levels in the tear fluid of patients with Sjogren's syndrome Meeting

- of the Association-for-Research-in-Vision-and-Ophthalmology (ARVO 2005), Ft Lauderdale, FL, 4464.
110. Rummenie VT, Matsumoto Y, Dogru M, Wang Y, Hu YQ, Ward SK, Igarashi A, Wakamatsu T, Ibrahim O, Goto E, Luyten G, Inoue H, Saito I, Shimazaki J, Tsubota K 2008 Tear cytokine and ocular surface alterations following brief passive cigarette smoke exposure. *Cytokine* **43**:200-208.
 111. Baker GRC, Morton M, Rajapaska RS, Bullock M, Gullu S, Mazzi B, Ludgate M 2006 Altered tear composition in smokers and patients with graves ophthalmopathy. *Archives of Ophthalmology* **124**:1451-1456.
 112. Fay WP 2004 Plasminogen activator inhibitor 1, fibrin, and the vascular response to injury. *Trends in Cardiovascular Medicine* **14**:196-202.
 113. Gils A, Declerck PJ 2004 Plasminogen activator inhibitor-1. *Current Medicinal Chemistry* **11**:2323-2334.
 114. Wahrenberg H, Wennlund A, Hoffstedt J 2002 Increased adipose tissue secretion of interleukin-6, but not of leptin, plasminogen activator inhibitor-1 or tumour necrosis factor alpha, in Graves' hyperthyroidism. *European Journal of Endocrinology* **146**:607-611.
 115. Hou BD, Eren M, Painter CA, Covington JW, Dixon JD, Schoenhard JA, Vaughan DE 2004 Tumor necrosis factor alpha activates the human plasminogen activator inhibitor-1 gene through a distal nuclear factor kappa B site. *Journal of Biological Chemistry* **279**:18127-18136.
 116. Li KJ, Chen ZY, Duan F, Liang JW, Wu KL 2010 Quantification of tear proteins by SDS-PAGE with an internal standard protein: A new method with special reference to small volume tears. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* **248**:853-862.
 117. Fodor M, Gogolak P, Rajnavolgyi E, Berta A, Kardos L, Modis L, Facsko A 2009 Long-Term Kinetics of Cytokine Responses in Human Tears After Penetrating Keratoplasty. *Journal of Interferon and Cytokine Research* **29**:375-379.
 118. Feldmann M, Brennan FM, Chantry D, Haworth C, Turner M, Katsikis P, Londei M, Abney E, Buchan G, Barrett K, Corcoran A, Kissonerghis M, Zheng R, Grubeckloebenstein B, Barkley D, Chu CQ, Field M, Maini RN 1991 Cytokine assays - Role in evaluation of the pathogenesis of autoimmunity. *Immunological Reviews* **119**:105-123.
 119. Carreno E, Enriquez-de-Salamanca A, Teson M, Garcia-Vazquez C, Stern ME, Whitcup SM, Calonge M 2010 Cytokine and chemokine levels in tears from healthy subjects. *Acta Ophthalmologica* **88**:e250-e258.
 120. Gupta A, Sadeghi PB, Akpek EK 2009 Occult Thyroid Eye Disease in Patients Presenting with Dry Eye Symptoms. *American Journal of Ophthalmology* **147**:919-923.
 121. Versura P, Campos EC 2010 The ocular surface in thyroid diseases. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* **10**:486-492.
 122. Natt N, Bahn RS 1997 Cytokines in the evolution of Graves' ophthalmopathy. *Autoimmunity* **26**:129-136.
 123. Mysliwiec J, Kretowski A, Stepień A, Mironczuk K, Kinalska I 2003 Interleukin 18 and transforming growth factor beta 1 in the serum of patients with Graves' ophthalmopathy treated with corticosteroids. *International Immunopharmacology* **3**:549-552.
 124. Lam H, Bleiden L, De Paiva CS, Farley W, Stern ME, Pflugfelder SC 2009 Tear Cytokine Profiles in Dysfunctional Tear Syndrome. *American Journal of Ophthalmology* **147**:198-205.

125. Yoon KC, Jeong IY, Park YG, Yang SY 2007 Interleukin-6 and tumor necrosis factor- α levels in tears of patients with dry eye syndrome. *Cornea* **26**:431-437.
126. Gurdal C, Sarac O, Genc I, Kirimlioglu H, Takmaz T, Can I 2011 Ocular Surface and Dry Eye in Graves' Disease. *Current Eye Research* **36**:8-13.
127. Cook E, B 2004 Tear cytokines in acute and chronic ocular allergic inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* **4**:441-445.
128. Yamada T, Sato A, Komiya I, Nishimori T, Ito Y, Terao A, Eto S, Tanaka Y 2000 An elevation of serum immunoglobulin E provides a new aspect of hyperthyroid Graves' disease. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **85**:2775-2778.
129. Enzmann DR, Donaldson SS, Kriss JP 1979 Appearance of Graves-disease on orbital computed-tomography. *Journal of Computer Assisted Tomography* **3**:815-819.
130. Wang ZY, Sosne G, Kurpakus-Wheater M 2005 Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) stimulates human corneal epithelial cell adhesion and migration in vitro. *Experimental Eye Research* **80**:1-8.

11. Kenézy Élettudományi Könyvtár által hitelesített publikációs lista

Iktatószám: DEENKÉTK /19/2012.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Ujhelyi Bernadett

Neptun kód: AN07ZZ

Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Ujhelyi, B.**, Gogolák, P., Erdei, A., Nagy, V., Balázs, E., Rajnavölgyi, É., Berta, A., Nagy, E.: Graves' orbitopathy results in profound changes in tear composition: A study of Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and seven cytokines.
Thyroid. Epub ahead of print (2011)
DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/thy.2011-0248>
IF:4.327 (2010)
2. **Ujhelyi, B.**, Erdei, A., Galuska, L., Varga, J., Szabados, L., Balázs, E., Bodor, M., Cseke, B., Karányi, Z., Leövey, A., Mezősi, E., Burman, K.D., Berta, A., Nagy, E.: Retrobulbar 99mTc-diethylenetriamine-pentaacetic-acid uptake may predict the effectiveness of immunosuppressive therapy in Graves' ophthalmopathy.
Thyroid. 19 (4), 375-380, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/thy.2008.0298>
IF:2.602

További Közlemények

3. **Ujhelyi B.**, Galuska L., Szabados L., Garai I., Urbancsek H., Szluha K., Berta A., Nagy E.: Retrobulbaris irradiáció endokrin orbitopathiában.
Magyar Belorv. Arch. 64 (5), 294-299, 2011.
4. **Ujhelyi B.**, Erdei A., Szabados L., Balázs E., Karányi Z., Galuska L., Nagy E., Berta A.: DTPA SPECT vizsgálat szerepe az endokrin orbitopathia immunológiai aktivitásának megítélésében.
Szemészet. 147, 116-120, 2010.

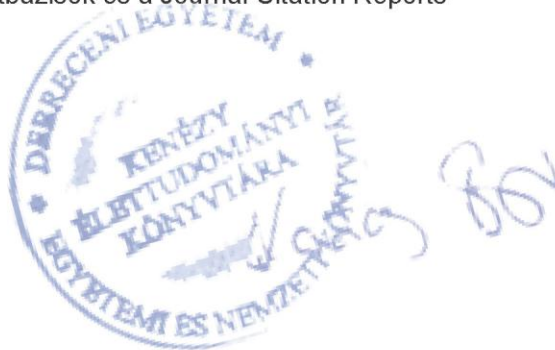
5. Szabados, L., Nagy, E., **Ujhelyi, B.**, Urbancsek, H., Varga, J., Galuska, L.: Significance of 99mTc-DTPA eye SPECT in patient selection for orbital irradiation in graves' ophthalmopathy: Endocrine orbitopathy.
Nucl. Med. Rev. Cent. East. Eur. 12 (1), 40. p., 2009.
6. Galuska, L., **Ujhelyi, B.**, Varga, J., Szabados, L., Erdei, A., Garai, I., Nagy, E.: Retrobulbar 99mTc-diethylenetriamine-pentaacetic-acid uptake predicts the effectiveness of immunosuppressive therapy in grave's ophthalmopathy.
Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 34 (2), S376, 2007.
7. **Ujhelyi B.**, Nagy A., Deák J., Édes I., Berta A., Facskó A.: Chlamydia pneumoniae fertőzöttség és az AMD kapcsolata coronariabetegek esetében..
Szemészet 144, 111-114, 2007.
8. Szűcs-Farkas, Z., Tóth, J., Kollár, J., Galuska, L., Burman, K.D., Boda, J., Leövey, A., Varga, J., **Ujhelyi, B.**, Szabó, J., Berta, A., Nagy, E.: Volume Changes in Intra- and Extraorbital Compartments in Patients with Graves' Ophthalmopathy: Effect of Smoking.
Thyroid. 15 (2), 146-151, 2005.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/thy.2005.15.146>
IF:2.175

Összesített impakt faktor: 9.104

Összesített impakt faktor: (értekezés alapjául szolgáló közlemények esetén): 6.929

A DEENK Kenézy Élettudományi Könyvtár a Jelölt által a Publikációs Adatbázisba feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2012.01.27



12. Tárgyszavak

Endokrin orbitopathia, Graves-Basedow kór, immunológiai aktivitás, DTPA SPECT, könny, citokin, PAI-1

13. Keywords

Graves' orbitopathy, Graves' disease, immunological activity, DTPA SPECT, tears, cytokines, PAI-1

14. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, Nagy Endre professzor úrnak a közel egy évtizedes közös munkát, folyamatos szakmai támogatását és mindenkor megértését. Orvostanhallgatóként elindított egy úton, amin azóta is haladok.

Köszönettel tartozom a Nukleáris Medicina Tanszék korábbi és jelenlegi igazgatójának, Galuska László professzor úrnak és Dr. Varga József tanár úrnak, valamint munkatársaiknak, különösen Szabados Lajos főorvos úrnak a segítségét prospektív vizsgálatunk lefolytatásában. Szeretném elengedhetetlen segítségéért köszönetemet kifejezni az Immunológiai Intézet igazgatójának, Rajnavölgyi Éva professzornőnek, valamint munkatársának, Gogolák Péternek a laboratóriumban eltöltött hosszú órák során mutatott türelméért és támogatásáért.

Hálás vagyok tanítómesteremnek a személyi pályán, Berta András professzor úrnak, a Szemklinika igazgatójának, aki tudományos munkámat és szakmai fejlődésemet mindig a legmesszebbmenőig támogatta. Köszönettel tartozom a Szemklinika és az I. sz. Belgyógyászati Klinika minden jelenlegi és korábbi munkatársának, mestereimnek és kollégáimnak, akikkel együtt dolgozhattam és akik nagyban hozzájárultak szakmai fejlődésemhez.

Munkámat családomnak ajánlom, akik mindenkor megértettek, hiszen tudták, hogy a nélkülük eltöltött idő nemes célt szolgál.

15. Függelék: További saját publikációk jegyzéke és bekötött publikációk

15.1. Az értekezés témájában megjelent idézhető absztraktok

Galuska L, Ujhelyi B, Varga J, Szabados L, Erdei A, Garai I, Nagy EV. Retrobulbar ^{99m}Tc -diethylenetriamine-pentaacetic-acid uptake predicts the effectiveness of immunosuppressive therapy in Graves' ophthalmopathy. European journal of nuclear medicine and molecular imaging 2007 Okt; Vol 34. Suppl 2 S376-S376

Szabados L, Nagy E, Ujhelyi B, Urbancsek H, Varga J, Galuska L Significance of ^{99m}Tc -DTPA eye SPECT in patient selection for orbital irradiation in Graves' ophthalmopathy: Endocrine orbitopathy. Nucl Med Rev Cent East Eur 2009 Vol 12 Suppl 1 40

15.2. Az értekezés témájához kapcsolódó poszterek

Ujhelyi B, Erdei A, Galuska L, Varga J, Szabados L, Leövey A, Balázs E, Karányi Zs, Nagy EV. Az immunosuppresszív kezelés várható hatásának előrejelzése endocrin orbitopathiában. Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XXI. Kongresszusa, Debrecen, 2006

Nagy EV, Ujhelyi B, Galuska L, Karányi Z, Mezősi E, Burman KD, Varga J, Leövey A. Retrobulbar ^{99m}Tc -diethylenetriamine-pentaacetic-acid (DTPA) uptake predicts the effectiveness of immunosuppressive therapy in Graves' ophthalmopathy. American Thyroid Association (ATA) 78th Annual Meeting, New York, USA 2007

Ujhelyi B, Varga Zs, Balázs E, Nagy EV, Berta A. Proinflammatory cytokines in tears of patients with Graves' orbitopathy. Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2009 Annual Meeting, Fort Lauderdale, Florida USA 2009

Ujhelyi B, Szabados L, Urbancsek H, Galuska L, Nagy EV, Berta A. Evaluation of retrobulbar irradiation efficiency by single photon emission computed tomography in patients with Graves' orbitopathy. European Society of Ophthalmology SOE/AAO Joint Meeting, Geneva, Switzerland, 2011

15.3. Az értekezés témájához kapcsolódó előadások

Ujhelyi B, Galuska L, Szabados L, Balázs E, Nagy EV, Berta A. Retrobulbaris autoimmun gyulladás aktivitásának megítélése különböző módszerekkel endocrin orbitopathiában. Magyar Szemorvostársaság 2007. évi Kongresszusa, Debrecen, 2007

Ujhelyi B, Varga Zs, Balázs E, Nagy EV, Berta A. Könnyminták citokin tartalmának vizsgálata endocrin orbitopathiában. Magyar Szemorvostársaság 2009. évi kongresszusa, Budapest, 2009

Szabados L, Nagy EV, Ujhelyi B, Urbancsek H, Varga J, Galuska L. ^{99m}Tc -DTPA szem SPECT jelentősége a radioterápia indikálásában endocrin orbitopathiás betegek esetén. Magyar Orvostudományi Nukleáris Társaság 2009. évi kongresszusa, Debrecen, 2009

Ujhelyi B, Erdei A, Galuska L, Szabados L, Urbancsek H, Berta A, Nagy EV. Retrobulbaris irradiatio hatásának követése endocrin orbitopathiában.

Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XXIII. Kongresszusa, Visegrád, 2010

Bodor M, Szabados L, Galuska L, Cseke B, Gazdag A, Ujhelyi B, Berta E, Nagy EV.

Nukleáris eljárással a nem endocrin orbitopathiás Graves-Basedow kóros betegek orbitájában is kimutatható immunaktivitás

Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XXIII. Kongresszusa, Visegrád, 2010

Ujhelyi B, Varga Zs, Balázs E, Nagy EV, Berta A. Cytokines in tears of patients with Graves' orbitopathy.

Magyar Szemorvostársaság 2010. évi kongresszusa, HARVO Symposium Szeged, 2010

15.4. Egyéb előadások jegyzéke

Ujhelyi B, Nagy EV, Győri F, Mezősi E. A halálligandok szerepe a papillaris pajzsmirigyrák és az immunrendszer interakciójában. Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XX. Kongresszusa, Szolnok, Hungary, 2004

Facsko A, Ujhelyi B, Nagy A, Deák J, Édes I. Chlamydia pneumoniae fertőzöttség és az AMD kapcsolata coronaria betegek esetében, Magyar Szemorvostársaság 2006. évi Kongresszusa, Sopron, 2006

Ujhelyi B, Nagy A, Deák J, Édes I, Berta A, Facskó A. Chlamydia pneumoniae seropositivity and age-related macular degeneration in patients with coronary heart diseases 50th Congress of European Society of Ophthalmology, Vienna, 2007 (poszter)

Ujhelyi B, Kettesy B, Módis L, Berta A. Recidiváló cornea erózió kialakulása szemfelszíni sérülések után. Magyar Szemorvostársaság 2008. évi Kongresszusa, Pécs, 2008

Kettesy B, Ujhelyi B, Berta A. Színes kontaktlencsék klinikai alkalmazása. Magyar Szemorvostársaság 2008. évi Kongresszusa, Pécs, 2008

Ujhelyi B, Kettesy B, Módis L. Infiltratio corneae kontaktlencse viselőkn. Magyar Kontaktológiai Társaság Továbbképző Tanfolyama és Kongresszusa, Balatonfüred, 2008

Ujhelyi B, Surányi É, Kettesy B, Nagy EV, Berta A. Keratoconus és hypothyreosis – véletlen egybeesés vagy következmény? Magyar Kontaktológiai Társaság Kongresszusa, Siófok, 2010

Erdei A, Cseke B, Penyigei N, Ujhelyi B, Berényi E, Boda J, Bodor M, Nagy EV.

Az endocrin orbitopathia és a Graves-Basedow kór kezelésében egyaránt hatásos az anti-CD20 biológiai terápia

Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XXIII. Kongresszusa, Visegrád, 2010

Ujhelyi B, Szabados L, Urbancsek H, Galuska L, Nagy EV, Berta A Retrobulbaris irradiatio hatásának vizsgálata DTPA SPECT segítségével endocrin orbitopathiában.

Magyar Szemorvostársaság 2011. évi kongresszusa, Siófok, 2011

Ujhelyi B, Surányi É, Kettesy B, Berta A, Módis L A terápiás kontaktlencse illesztés indikációi és gyakorlata. Magyar Kontaktológiai Társaság Kongresszusa, Galyatető, 2011