

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**AZ IMMUNREGULÁCIÓS ZAVAROK VIZSGÁLATA
SZISZTÉMÁS AUTOIMMUN KÓRKÉPEKBEN**

Dr. Papp Gábor

Témavezető: Prof. Dr. Zeher Margit



DEBRECENI EGYETEM

Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskola

Debrecen, 2012

Az immunregulációs zavarok vizsgálata szisztémás autoimmun kórképekben

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Papp Gábor általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai
Doktori Iskolája (immunológia programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Zeher Margit, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Maródi László, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Remenyik Éva, az MTA doktora
Prof. Dr. Domján Gyula, Ph.D.

A doktori szigorlat időpontja: 2012. május 29.

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Kemény Lajos, az MTA doktora
Dr. Antal-Szalmás Péter, Ph.D.

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Maródi László, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Kemény Lajos, az MTA doktora
Dr. Antal-Szalmás Péter, Ph.D.
Prof. Dr. Remenyik Éva, az MTA doktora
Prof. Dr. Domján Gyula, Ph.D.

Az értekezés védésének időpontja:

2012. május 29. 14 óra, a DE OEC I. sz. Belgyógyászati Klinika tanterme

1. BEVEZETÉS

A szervezet immunológiai homeosztázisának alapfeltétele, hogy az immunrendszer képes legyen különbséget tenni a szervezetet felépítő saját és a nem-saját molekulák között, és azokra eltérő módon reagáljon. A saját antigénstruktúrák védelmének biztosításában az immunrendszer többféle szabályozó mechanizmusa vesz részt. A centrális tolerancia kifejlődése a csontvelőben, illetve a thymusban megy végbe, mikor a sejtérés korai stádiumában a saját antigéneket felismerő receptorokkal rendelkező lymphocyták elpusztulnak, vagy érzéketlenné válnak az adott stimulusra (klonális deléció, klonális anergia). Mindemellett azonban számottevő mennyiségben jelennek meg autoreaktív sejtek a periférián, melyek szövet- és szervkárosító hatása normális körülmények között nem fejeződik ki, köszönhetően a perifériás tolerancia jelenségének. Az immunválasz kontrollálásában és a perifériás tolerancia fenntartásában kulcsszerepet játszanak a regulatórikus aktivitással rendelkező immunkompetens sejtek.

Munkám első részében az immunhomeosztázis megbomlásában szerepet játszó patológiás immunreaktivitás, illetve elégtelen regulatórikus sejtműködés szerepét tanulmányoztam primer Sjögren-szindrómában (pSS) és szisztémás sclerosisban (SSc), különös tekintettel a klinikai tünetekkel való összefüggésekre. Kutatásaim második részében az extrakorporális fotoferezis (ECP) kezeléseket immunmoduláló hatásait és klinikai hatékonyságát vizsgáltam szisztémás sclerosisban szenvedő betegekben.

1.1. Sjögren-szindróma

A Sjögren-szindróma a második leggyakoribb szisztémás autoimmun megbetegedés a rheumatoid arthritis után. Leginkább a 40-50 év közötti nők körében alakul ki. A kórfolyamat elsősorban az exokrin elválasztású mirigyeket érinti, csökkent könny- és nyáleválasztást okozva. A jellegzetes glanduláris tüneteken túl szisztémás, vagy ún. extraglanduláris tünetek (EGMs) is megjelenhetnek (pl. polyarthritis, Raynaud-szindróma, vasculitis). A betegségnek két típusát különböztetjük meg, a primer és szekunder Sjögren-szindrómát, mely utóbbira egy másik autoimmun betegséggel való társulás jellemző.

A betegség patogenezise még nem teljes mértékben tisztázott, azonban annyi bizonyos, hogy multifaktoriális jellegű folyamat, mely során az autoimmun gyulladásozó folyamatok szöveti károsodáshoz vezetnek. A hisztológiai vizsgálatok alapján az infiltráló lymphocyták dominálón CD4+ T- és B-sejtek, melyek az érintett mirigyek diszfunkciójához

és károsodásához vezetnek a gyulladásoz immunfolyamatok kiváltása által. A regulatív T-sejtek csökkent jelenléte, illetve szuppresszor funkciójának zavara a kutatások alapján fontos szerepet tölthet be a Sjögren-szindróma patogenezisében. Egyes tanulmányok a pSS betegek kismirigy biopszias mintáiban az egészséges mintákhoz képest alacsonyabb CD4+ CD25+ regulatív T (Treg) sejtszámot írtak le, továbbá a perifériás vér vizsgálata során is csökkenést tapasztaltak a regulatív sejtek számában. Említést érdemel azonban egy másik tanulmány is, mely nem igazolta a CD4+ CD25+ Treg sejtek eltéréseit a betegségben.

1.2. Szisztémás sclerosis

A szisztémás sclerosis egy krónikus szisztémás autoimmun megbetegedés, mely vasculáris károsodásokkal, és a bőr illetve egyes belső szervek (pl. szív, tüdő vagy vese) fibrózisával majd késői atrofijával jár. Általában a 40-es életévekben kezdődik, és dominálónan a nőket érinti. A betegségnek klinikailag két formáját különböztetjük meg: a limitált cutan és a súlyosabb diffúz cutan formát. A diffúz cutan SSc-re a bőr kiterjedtebb érintettsége és a belső szervek gyors és progresszív fibrózisa jellemző. Mivel a terápiás lehetőségek főleg a komplikációk kezelésére korlátozódnak, a betegség diffúz cutan formájában szenvedőknek a legmagasabb a mortalitása az autoimmun kötőszöveti megbetegedések viszonylatában. Leginkább a belső szervi manifesztációk kifejlődése és súlyossága határozza meg a betegek mortalitási mutatóit. A halálozási okok között a légzőrendszert érintő elváltozások a legjelentősebbek, intersticiális alveolitis, pulmonális fibrózis, illetve pulmonális arteriális hypertonia (PAH) fejlődhet ki.

Bár még nem tisztázott teljes mértékben a betegség patogenezise, a kórfolyamat három alapvető lépése egyértelműen meghatározható: az endotheliális eltérések megjelenése, a patológiás immunreakció és az érintett szövetek fibrózisa. Az SSc-ben megnyilvánuló immundiszfunkció intenzív kutatások témája. Korábbi tanulmányok a T-helper (Th)1 és Th2 citokin profil Th2 irányú eltolódásának szerepét vetették fel a fibrotikus folyamatok beindításában, ugyanis az interleukin (IL)-4 citokin emelkedett szintje a transzformáló növekedési faktor (TGF)-béta fokozott termelődését váltja ki, mely a fibroblasztok proliferációjához és fokozott kollagénszintézishez vezet. Az IL-17 termelő Th17 sejtek fontos szerepet játszanak az autoimmun folyamatokban, és újabb vizsgálatok magasabb perifériás Th17 sejtarányról és emelkedett IL-17 citokin szintekről számoltak be SSc-ben. A Th17 sejtek szintén képesek a TGF-béta fokozott szintézisének, illetve a fibroblasztok proliferációjának kiváltására, mely tulajdonságuk felveti a központi szerepüket a betegség patogenezisében. A

CD4+ CD25+ Treg sejteket célzó vizsgálatok a betegségben egymásnak ellentmondó eredményeket hoztak. Míg egyes munkacsoportok emelkedett, addig mások csökkent CD4+ CD25+ Treg sejtszámokat tapasztaltak az SSc betegek perifériás vérében.

1.3. A fotoferezis kezelés

Az extrakorporális fotoferezis egy speciális immunmoduláns terápia, mely az aferezis technológián alapszik. Az eljárás során a beteg perifériás véréből nyert leukocytá gazdag plazma szeparálását követően 8-metoxi-pszoralennel (8-MOP), egy fotoszenzitivizáló vegyülettel kezeljük a sejteket, majd UV-A besugárzást követően reinfundáljuk őket a szervezetbe. A 8-MOP az UV-A sugárzás hatására fotoaktiválódik, és keresztkötéseket hoz létre a DNS láncok között, melynek következtében a kezelt lymphocyták a keringésbe visszakerülve apoptózissal elpusztulnak. Az apoptotikus lymphoid sejteket makrofágok és dendritikus sejtek fagocitálják. Az apoptotikus sejtekből származó antigének antigén prezentáló sejtek általi bemutatása a „danger” szignálok hiányában szerepet játszhat a saját antigénekkal szembeni immuntolerancia kialakulásában. A T-helper sejtek citokin profiljának Th2 irányú eltolódásáról is beszámoltak a terápia alkalmazása során, továbbá egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy a kezelések nyomán bekövetkező CD4+ CD25+ Treg sejt expansió, továbbá a fokozott IL-10 termelés kulcsszerepet játszik az immunrendszer autoreaktivitásának csillapításában.

Számos hematológiai és immunológiai kórképben, továbbá transzplantációt követően is leírták a fotoferezis kezeléseket jótékony klinikai hatását. Mindezekon túl, az eljárás ígéretesnek tűnik a szisztémás sclerosis diffúz cutan formájában is. Egy randomizált, kettős-vak, placebo kontrollált tanulmány alapján az ECP jelentősen csökkenti a betegek bőr- és ízületi panaszait. Egy másik vizsgálat azt mutatta ki, hogy a fotoferezis hatására a bőr vastagsága csökkent, de az echo-intenzitása nőtt, ennek alapján a kezelés hatékonyabbnak tűnik a bőr duzzanatának csökkentésében, mint a már kifejlődött fibrózis megszüntetésében. Mivel a fotoferezis eljárás biológiai hatásait és azok mélyebb összefüggéseit ezidáig csak állatkísérletes modelleken, illetve humán graft-versus-host betegségben és cutan T-sejtes lymphomában vizsgálták, az autoimmun kórképek kezelése során mutatott hatékonyság mögött álló mechanizmusok feltérképezése új irányt adhat a kutatások számára.

2. CÉLKITŰZÉSEK

2.1. A Sjögren-szindróma vizsgálata

Munkánk során a perifériás regulatórikus tulajdonságú sejtek a pSS patogenezisében betöltött szerepét tanulmányoztuk. Meghatároztuk a pSS betegek perifériás vérében keringő természetes ölüsejtek (natural killer, NK), NKT, 1-es típusú regulatív T (Tr1) és CD4+ CD25+ Treg sejtek százalékos értékeit, továbbá az IL-4, IL-6, IL-10, tumor nekrozis faktor (TNF)-alfa és interferon (IFN)-gamma citokinek szérumszintjeit. In vitro funkcionális teszttel megvizsgáltuk CD4+ CD25+ Treg sejtek szuppresszor képességét is. A betegeket két alcsoportba osztottuk az extraglanduláris tünetek megléte, illetve hiánya alapján, majd elvégeztük az alcsoportok laboratóriumi paramétereinek összehasonlítását, és összefüggéseket kerestünk vizsgált laboratóriumi eredmények és a klinikai adatok között.

2.2. A szisztémás sclerosis vizsgálata

Tanulmányunk során a perifériás immunkompetens sejtípusok széles spektrumát (B, NK, NKT, aktivált T, naív és memória T, Th1, Th2, Th17, Tr1 és CD4+ CD25+ Treg sejtek) vizsgáltuk a szisztémás sclerosisban megfigyelhető immunológiai eltérések alaposabb leírása céljából. Meghatároztuk továbbá a szérumszintjeit IL-4, IL-10, IFN-gamma és komplement szinteket, és in vitro funkcionális teszttel felmértük a CD4+ CD25+ Treg sejtek szuppresszor aktivitását is. A kiértékelések során különös figyelmet fordítottunk a laboratóriumi paraméterekben tapasztalt eltérések és a betegek klinikai tüneteinek kapcsolatára.

2.3. A fotoferezis kezelés vizsgálata

A fotoferezis terápia hatékonyságának felmérése céljából széleskörű vizsgálatokat folytattunk a betegek klinikai állapotfelmérésétől kezdve a laboratóriumi paraméterek kiértékeléséig. A vizsgálatokat a terápia megkezdése előtt, illetve minden kezelési ciklust követő hatodik héten végeztük el. Nyomon követtük a diffúz cutan SSc-ben szenvedő betegek bőr-, ízületi és belső szervi érintettségének változását a kezeléseket alatt. Az eljárás immunbiológiai hatásainak vizsgálata céljából meghatároztuk a betegek perifériásan keringő regulatív és effektor immunsejtjeinek (B, NK, NKT, aktivált T, naív és memória T, Th1, Th2, Th17, Tr1 és CD4+ CD25+ Treg sejtek) és szérumszintjeinek széles spektrumát [TNF-alfa,

IFN-gamma, IL-1-alfa, IL-1-beta, IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17, kemokin (C-C motívum) ligand 2 (CCL2), fibroblaszt növekedési faktor (FGF), vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF), epidermális növekedési faktor (EGF), hepatocytá növekedési faktor (HGF) és TGF-béta]. Az SSc betegek CD4+ CD25+ Treg sejteinek szuppresszor képességében bekövetkezett változásokat in vitro funkcionális teszttel követtük nyomon a fotoferezis terápia során. Megvizsgáltuk továbbá az ECP hatását a szérumban autoantitest szintekre is, végül kiértékeljük az összefüggéseket betegek klinikai vizsgálati eredményeiben és laboratóriumi paramétereiben megfigyelt változások között.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Betegek

A DEOEC III. sz. Belgyógyászati Klinika Klinikai Immunológiai Tanszéke hazánk egyik legnagyobb múltú, illetve betegforgalmú immunológiai centruma. A kutatásaink során vizsgált Sjögren-szindrómás és szisztémás sclerosisos betegek rendszeres követése és gondozása a tanszékünkön történik. A tanulmányainkba bevont személyek írásbeli beleegyező nyilatkozatot tettek, a vizsgálatot a DEOEC Etikai Bizottsága engedélyezte, a kísérletek a Helsinki Nyilatkozatban foglaltaknak megfelelően történtek.

A Sjögren-szindróma vizsgálatába bevont betegek

A vizsgálatba 32 primer Sjögren-szindrómás beteget (1 férfi, 31 nő; átlagéletkor: $49,5 \pm 7,2$ év) vontunk be. A diagnózis megállapítása az Amerikai-Európai Konszenzus Kritériumrendszer alapján történt. Kilenc betegnél csupán glanduláris tünetek jelentkeztek, míg 23 beteg egy vagy több extraglanduláris tünetet is mutatott a kórlefolyás során. Az EGM eloszlása a következőképpen alakult: tüdőérintettség $n = 2$, myositis/myalgia $n = 3$, polyneuropathia $n = 5$, Raynaud-jelenség $n = 14$, vasculitis $n = 15$, polyarthrititis $n = 18$. Laboratóriumi méréseinkhez kontrollként 20 egészséges, korban és nemből a vizsgált betegpopuláció jellemzőinek megfelelő személy szerepelt. A tanulmányban szereplő betegek, illetve kontroll személyek egyike sem részesült immunszuppresszív, vagy immunmoduláns kezelésben, illetve nem szenvedett sem bakteriális, sem vírusos fertőzésben.

A szisztémás sclerosis vizsgálatába bevont betegek

A vizsgálatba 21 diffúz cutan szisztémás sclerosisban szenvedő beteget (1 férfi, 20 nő; átlagéletkor: $50,8 \pm 15,2$ év) vontunk be, a betegség diagnózisának megállapítása a megfelelő diagnosztikai kritériumok szerint történt. Három beteg metilprednizolon (4 mg naponta), 2 beteg metotrexát (15 mg hetente) kezelésben részesült, míg 16 beteg nem kapott immunszuppresszív, vagy immunmoduláns terápiát a vizsgálat alatt, csupán napi 2 x 400 mg pentoxifillin és 2,5 mg amlodipin kezelésben részesült. A vérvételek időpontja előtt minden betegnél 48 órára felfüggesztettük a gyógyszeres terápiát. Tizenöt korban és nemből megfelelő egészséges személy szolgált kontrollként. Sem a betegek, sem az egészséges kontrollok nem szenvedtek infekcióban a vizsgálat időpontjában, illetve az azt megelőző 6 hónapban.

A fotoferezis kezelés vizsgálatába bevont betegek

A vizsgálatba 16 diffúz cutan szisztémás sclerosisban szenvedő beteget vontunk be (14 nő és 2 férfi; átlagéletkor: $46,5 \pm 13,2$ év). A diagnózis megállapítása a megfelelő diagnosztikai kritériumok alapján történt, a betegség fennállásának átlagos időtartama a kezelések megkezdésének időpontjában 3,9 (0,5 - 7) év volt. A vizsgálatba bevont betegek a fotoferezis terápia bevezetése előtt legkevesebb 1 éven keresztül 2 x 400 mg pentoxifillin és 2,5 mg amlodipin kezelésben részesültek, immunszuppresszív, illetve immunmoduláns terápia alatt nem álltak. A laboratóriumi vizsgálatokhoz 16 egészséges, korban és nemi összetételben megfelelő személy szolgált kontrollként. Sem a betegek, sem a kontroll személyek nem szenvedtek fennálló fertőzésben a kezelés időtartama alatt, illetve az azt megelőző 6 hónapban.

3.2. A fotoferezis terápia

A fotoferezis kezeléseket a THERAKOS UVAR XTS készülék használatával (Therakos Inc., Raritan, NJ, USA), a gyártó által megadott instrukciók alapján történtek. A standard protokollnak megfelelően a kezelési ciklusokat 6 hetente ismételtük meg, mindegyik terápiás ciklus 2 fotoferezis eljárásból állt, melyeket az egymást követő napokon hajtottuk végre. A betegek fejenként összesen 6 kezelési ciklusban részesültek.

3.3. Klinikai vizsgálati módszerek

A pSS betegek könny- és nyálmirigy szekréciójának vizsgálatára Schirmer-tesztet, illetve szialometriás vizsgálatot végeztünk.

Az SSc betegek bőrérzettségének meghatározása a módosított Rodnan-féle bőrpontszám (MRSS) kiszámításával történt. A belső szervi érintettség kivizsgálására az alábbi diagnosztikai eszközök szolgáltak: mellkas röntgen, nagy felbontású computer tomográfia (HRCT), spirometria/diffúziós kapacitás mérése, Doppler szívultrahang, hasi ultrahang vizsgálat, nyelőcső passzázs radiográfia és rutin laboratóriumi tesztek.

A fotoferezises vizsgálataink során az SSc betegek bőrvastagságát ultrahangos vizsgálatokkal is meghatároztuk. A betegek ízületi érintettségének változásának követésére megmértük a mozgástartományokat mindkét oldalon a felső (váll, könyök, csukló) és az alsó (csípő, térd, boka) végtagokon.

3.4. Laboratóriumi vizsgálati módszerek

Lymphocytá alcsoportok meghatározása

A lymphocytá alcsoportok meghatározásához monoklonális ellenanyagokat használtunk fel az alábbi sejtfelszíni markerek ellen: CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 és CD56 (BD Biosciences, San Diego, CA, USA és Immunotech, Marseille, France). A T-sejt aktivációs markereket, úgy mint a HLA-DR és CD69 antigéneket szintén vizsgáltuk a CD3+ sejteken (BD Biosciences). A naív és memória T-sejtek meghatározásához a fentiekén kívül az alábbi ellenanyagok szolgáltak: anti-CD45RA-fluorescein izotiocianát (FITC)/CD4-fikoeritrin (PE) (Immunotech), anti-CD45RA-FITC/CD8-PE (AbD Serotec, Oxford, UK) és CD62L-fikoeritrin-Cy5 (PC5) (Immunotech). A CD95 (Fas receptor) expressziójának vizsgálatához anti-CD95 antitestet (Immunotech) használtunk. A méréseket és kiértékeléseket a pSS betegek vizsgálata során a Coulter EPICS XL-4 készüléken (Beckman Coulter Inc., Miami, FL, USA), az SSc betegek esetén Coulter FC500 flow cytometeren (Beckman Coulter Inc.) végeztük el. A sejtek típusait az alábbi módon határoztuk meg: T-sejtek (CD3+), Th sejtek (CD3+ CD4+), cytotoxikus T-sejtek (CD3+ CD8+), B-sejtek (CD19+), korai aktivált T-sejtek (CD3+ CD69+), késői aktivált T-sejtek (CD3+ HLA-DR+), NK (CD3- CD16+ CD56+) és NKT sejtek (CD3+ CD16+ CD56+). A vizsgált sejtek arányát a teljes lymphocytá populációban adtuk meg. A naív és memória T-sejt altípusok értékei a CD4+ és CD8+ sejtpopulációkon belül lettek meghatározva, az alábbiak szerint: naív helper T (CD4+ CD45RA+ CD62L+), centrális memória helper T (CD4+ CD45RA- CD62L+), effektor memória helper T (CD4+ CD45RA- CD62L-), naív cytotoxikus T (CD8+ CD45RA+ CD62L+), centrális memória cytotoxikus T (CD8+ CD45RA- CD62L+), effektor memória cytotoxikus T (CD8+ CD45RA- CD62L-) és terminálisan differenciálódott effektor memória cytotoxikus T-sejtek (CD8+ CD45RA+ CD62L-).

CD4+ T-sejtek alcsoportjainak meghatározása

A CD4+ T-sejtek intracelluláris festéséhez az alábbi monoklonális antitesteket használtuk: FITC-konjugált IFN-gamma, PE-konjugált anti-interleukin IL-4, PE-konjugált anti-IL-10 (BD Biosciences), továbbá PE-konjugált anti-IL-17 (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Az intracelluláris festődés alapján az alábbi sejteket különböztettük meg: Th1: CD4+ IFN-gamma+ IL4-; Th2: CD4+ IFN-gamma- IL4+; Tr1: CD4+ IL10+; Th17: CD4+ IL17+. A CD4+ CD25+ Treg sejt típus meghatározása heparinnal alvadásgátolt vérből frissen szeparált perifériás mononukleáris sejtek (PBMCs) felhasználásával, a CD4, CD25 antigének

sejtfelszíni, illetve a forkhead box P3 (FoxP3) intracelluláris jelölésével történt. Az alábbi reagenseket alkalmaztuk: Ficoll (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA), anti-CD4-FITC (Sigma Aldrich), anti-CD25-PC5 (Immunotech), anti-FoxP3-PE, clone: PCH101 (eBioscience, San Diego, CA, USA). A méréseket és kiértékeléseket a pSS betegek vizsgálata során a Coulter EPICS XL-4 készüléken (Beckman Coulter Inc.), az SSc betegek esetén Coulter FC500 flow cytometeren (Beckman Coulter Inc.) végeztük el.

CD4+ CD25+ Treg sejtek in vitro funkcionális vizsgálata

A CD4+ CD25- és CD4+ CD25+ T-sejteket PBMCs-ből izoláltuk Miltenyi Regulatory T Cell Isolation Kit, illetve LD és MS oszlopok (Miltenyi Biotech, Bergisch Gladbach, Germany) felhasználásával, a gyártó által leírt protokollnak megfelelően. A sejteket szeparáltan, illetve 1:1 arányú kevert kultúrában tenyésztettük 72 órán keresztül. A poliklonális stimuláció szimulálására anti-CD3/CD28 T-sejt expander mikrogyöngyöket (Dynal, Oslo, Norway) alkalmaztunk. A sejtproliferációt EZ4U Proliferation Kit-tel (BioMedica Inc, San Diego, CA, USA) vizsgáltuk, az optikai denzitás (OD) értékeket 450 nm-es hullámhosszon Labsystems Multiskan MS készülékkel (MTX Lab Systems Inc., Vienna, VA, USA) mértük le. A kevert kultúrák OD értékeit korigáltuk a tiszta CD4+ CD25+ T tenyészetek OD értékeivel. A szuppresszor aktivitást a CD4+ CD25- T-sejt kultúrák és a kevert kultúrák korigált OD értékeinek hányadosa alapján számoltuk.

Szérum citokinek meghatározása

A szérum IL-4, IL-6, IL-10, TNF-alfa, IFN-gamma és TGF-béta szinteket a megfelelő OptEIA ELISA kit-ek (BD Biosciences) felhasználásával ELISA technikával határoztuk meg, a gyártó által leírt instrukcióknak megfelelően. A szérum citokinek széles spektrumának (TNF-alfa, IFN-gamma, IL-1-alpha, IL-1-beta, IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17, CCL2, FGF, VEGF, EGF és HGF) meghatározása multiplex citokin assay-vel, ún. Fluorokine Multianalyte Profiling Kit-ek (R&D Systems) felhasználásával történt. A minták feldolgozását a gyártó által megadott protokollnak megfelelően végeztük el, a mérések kivitelezése és kiértékelése Luminex 200 (Luminex, Austin, TX, USA) analizátor, illetve Applied Cytometry System SStarStation 3.0 szoftver (Applied Cytometry, Dinnington, UK) felhasználásával történt a Semmelweis Egyetem Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézetében.

A szérum komplement és autoantitest szintek meghatározása

A C3 és C4 szérum komplement méréseket BN II Nephelometeren (Siemens AG, München, Germany) végeztük el anti-C3 és anti-C4 antitestek (Dialab GmbH, Neudorf, Austria) és a megfelelő kontrollok és kalibrátorok (Siemens AG) felhasználásával. Az extrahálható nukleáris antigén (ENA) elleni antitestek meghatározás ELISA módszerrel a megfelelő AUTOSTAT II kit (Hycor Biomedical, Indianapolis, IN, USA) alkalmazásával, a gyártó által megadott protokollnak megfelelően történt.

3.5. Statisztikai módszerek

A statisztikai adatfeldolgozás során SPSS v.12.0 szoftvert (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) alkalmaztunk. Az adataink normál eloszlásának vizsgálatát Kolgomorov-Smirnov teszttel végeztük el. Normál eloszlás esetén meghatároztuk az átlag \pm szórás (SD) értékeket, és a kísérleti adataink statisztikai kiértékeléséhez kétmintás t-próbát végeztünk. Nem-normál eloszlás esetén medián, valamint minimum és maximum értékeket kalkuláltunk, és Mann-Whitney próbát alkalmaztunk. Ismételt mérések variancia-analízis (ANOVA) tesztet végeztünk a paraméterek időbeli változásának vizsgálatához. A korrelációs számítások során normál eloszlás esetén a Pearson-féle, nem-normál eloszlás esetén a Spearman-féle korrelációs koefficiens határoztuk meg. A statisztikai próbák értékelésénél a $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A Sjögren-szindróma vizsgálatának eredményei

Perifériás NK és NKT sejtek

Az NK sejtek százalékos arányát primer Sjögren-szindrómában szenvedő betegeknél az egészséges kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan magasabbnak mértük ($15,31 \pm 9,81$ % vs. $10,87 \pm 4,74$ %, $p = 0,034$). A szisztémás tünetek jelenléte, illetve hiánya alapján elkülönített két betegcsoportban közel azonos NK értékek igazolódtak.

Az NKT sejtek értékeit hasonlóan emelkedettnek találtuk a betegekben a kontroll adatokhoz viszonyítva ($5,18 \pm 4,60$ % vs. $3,07 \pm 2,28$ %, $p = 0,033$). Az EGM-t mutató betegek vérében az NKT sejtek aránya szignifikánsan magasabb volt a csak glanduláris tünetektől szenvedő betegekben ($6,26 \pm 4,85$ % vs. $2,41 \pm 2,30$ %, $p = 0,003$), és a kontroll egyénekben mért értékekhez képest ($6,26 \pm 4,85$ % vs. $3,07 \pm 2,28$ %, $p = 0,005$). A glanduláris pSS betegek és az egészséges személyek adatai hasonlóan adódtak.

Perifériás regulatív T-sejtek

A perifériás Tr1 sejtek arányát jelentősen emelkedettnek mértük a betegekben az egészségesek adataihoz viszonyítva ($18,51 \pm 7,83$ % vs. $2,73 \pm 4,06$ %, $p < 0,001$). A betegek két alcsoportjának összehasonlítása során azt tapasztaltuk, hogy az EGM-et mutató betegek Tr1 sejtjeinek aránya szignifikánsan magasabb volt a csupán glanduláris tüneteket mutató betegek értékeihez képest ($20,02 \pm 8,57$ % vs. $14,81 \pm 3,96$ %, $p = 0,028$). A kontroll értékekhez történő viszonyítás során a betegek mindkét alcsoportjában szignifikánsan emelkedett Tr1 arányok igazolódtak (gland. pSS vs. kontroll: $14,81 \pm 3,96$ % vs. $2,73 \pm 4,06$ %, $p < 0,001$; pSS + EGM vs. kontroll: $20,02 \pm 8,57$ % vs. $2,73 \pm 4,06$ %, $p < 0,001$).

A CD4⁺ CD25⁺ Treg sejtek százalékos arányát szignifikánsan alacsonyabbnak mértük a pSS betegek perifériás vérében az egészséges kontrollokéhoz viszonyítva ($3,07 \pm 1,41$ % vs. $4,59 \pm 2,34$ %, $p = 0,005$). A szisztémás tüneteket mutató pSS betegek értékei szignifikánsan magasabbak voltak a csak glanduláris eltéréseket mutató betegekéhez képest ($3,39 \pm 1,26$ % vs. $2,25 \pm 1,51$ %, $p = 0,038$), azonban a szignifikáns különbség továbbra is megmaradt a betegek két alcsoportja és az egészséges kontroll személyek adatai között (gland. pSS vs. kontroll: $2,25 \pm 1,51$ % vs. $4,59 \pm 2,34$ %, $p = 0,003$; pSS + EGM vs. kontroll: $3,39 \pm 1,26$ % vs. $4,59 \pm 2,34$ %, $p = 0,038$).

A CD4+ CD25+ Treg sejtek in vitro funkcionális vizsgálata

Az in vitro funkcionális teszthez véletlenszerűen kiválasztottunk 7 csak glanduláris és 7 extraglanduláris tünetet is mutató beteget, illetve 7 egészséges személyt. Adataink alapján a pSS betegek perifériás CD4+ CD25+ Treg sejtei lényegesen csökkent szuppresszor aktivitást mutattak a kontroll eredményekhez képest ($1,526 \pm 0,66$ vs. $2,395 \pm 0,87$, $p = 0,019$). A betegek két alcsoportjának értékei között nem volt különbség.

Szolubilis citokinek

Vizsgálataink során szignifikánsan emelkedett IL-6 és TNF-alfa, illetve csökkent IL-10 szinteket mértünk a pSS betegek szérumban a kontroll személyek értékeihez képest [IL-6: medián: 0,8 (0,8-32,5) pg/ml vs. medián: 0,8 (0,8-2,2) pg/ml, $p < 0,001$]; TNF-alfa: medián: 0,8 (0,1-16,5) pg/ml vs. medián: 0,4 (0,1-1,2) pg/ml, $p = 0,001$; IL-10: medián: 0,79 (0-72,86) pg/ml vs. median: 5,14 (0,1-31,91) pg/ml, $p = 0,017$]. Az IL-4 és IFN-gamma szintek esetén nem találtunk különbséget.

Összefüggések a laboratóriumi paraméterek és siccás tünetek között

Eredményeink statisztikai feldolgozása során negatív korrelációt tapasztaltunk a betegek szérumban IL-10 szintjei és perifériás Tr1 sejteinek százalékos arányai között ($R = -0,369$, $p = 0,019$).

Negatív korrelációt tapasztaltunk a perifériás CD4+ CD25+ Treg sejtek százalékos arányai és a betegek szialometriás eredményei között is ($R = -0,538$, $p = 0,003$).

A vizsgálatba bevont betegek közül 19 beteg volt SS-A pozitív, míg 9 esetben SS-A – SS-B kettős autoantitest pozitivitás igazolódott. Nem találtunk összefüggést az autoantitestek jelenléte és a tanulmányunk során megfigyelt immunológiai eltérések között.

4.2. A szisztémás sclerosis vizsgálatának eredményei

Perifériás NK és NKT sejtek

Az NK sejtek százalékos aránya SSc-ben a kontroll értékekhez képest szignifikánsan magasabbnak ($13,33 \pm 6,25$ % vs. $8,74 \pm 3,74$ %, $p = 0,014$), míg NKT sejtek értéke alacsonyabbnak adódott ($1,25 \pm 0,91$ % vs. $2,67 \pm 2,34$ %, $p = 0,021$).

Aktivált, naív és memória T-sejt altípusok

Míg a korai aktivált T-sejtek esetén nem tapasztaltunk eltérést, a késői aktivált T-sejtek szignifikánsan magasabb százalékos arányt mutattak az SSc betegek perifériás vérében a kontroll személyek értékeihez képest ($3,58 \pm 1,83$ % vs. $2,01 \pm 1,57$ %, $p = 0,012$). A naív és memória sejtek vizsgálata során a betegekben szignifikánsan csökkent CD4+ naív T sejtarányokat mértünk ($34,74 \pm 10,39$ % vs. $42,76 \pm 8,09$ %, $p = 0,038$), míg a CD4+ centrális memória T-sejtek arányai szignifikánsan emelkedettek voltak a kontrollok adataihoz viszonyítva ($39,59 \pm 7,77$ % vs. $34,16 \pm 5,43$ %, $p = 0,039$). A CD8+ sejtek esetében is szignifikánsan csökkent a betegekben CD8+ naív T sejtarány ($28,03 \pm 15,13$ % vs. $44,37 \pm 18,93$ %, $p = 0,027$), míg a CD8+ centrális memória T sejtarány emelkedett az egészségesek értékeihez képest ($17,75 \pm 13,51$ % vs. $10,05 \pm 4,22$ %, $p = 0,035$).

Perifériás helper T-sejtek

Az SSc betegekben a kontrollhoz képest szignifikánsan alacsonyabbnak találtuk a Th1 sejtek százalékos arányát ($12,78 \pm 5,21$ % vs. $18,19 \pm 4,87$ %, $p = 0,004$). A Th2 sejtek esetében nem tapasztaltunk eltérést a betegek és egészségesek értékei között. A Th17 sejtek esetében a betegek perifériás vérében szignifikánsan magasabb százalékos arányt mértünk a kontroll értékekhez viszonyítva ($1,58 \pm 0,71$ % vs. $1,05 \pm 0,49$ %, $p = 0,028$).

Perifériás regulatív T-sejtek

A perifériás Tr1 sejtek százalékos értékét jelentősen alacsonyabbnak mértük az SSc betegek vérében, mint az egészségesekében ($0,54 \pm 0,19$ % vs. $0,87 \pm 0,31$ %, $p = 0,002$). A CD4+ CD25+ Treg sejtek százalékos aránya a Tr1 sejtekéhez hasonlóan alacsonyabbnak adódott a betegek perifériás vérében ($5,03 \pm 2,29$ % vs. $6,21 \pm 0,91$ %, $p = 0,031$). Mindezen eltérésekből adódóan, amikor kiszámítottuk a Th17/CD4+ CD25+ Treg sejtek egymáshoz viszonyított arányát, az SSc betegek esetében szignifikánsan magasabb értékeket kaptunk az egészségesekhez viszonyítva ($0,39 \pm 0,28$ vs. $0,23 \pm 0,14$, $p = 0,042$).

A CD4+ CD25+ Treg sejtek in vitro funkcionális vizsgálata

Eredményeink alapján az SSc betegek perifériás CD4+ CD25+ Treg sejtjeit szignifikánsan csökkent szuppresszor aktivitás jellemezte az egészséges kontrollokéhoz viszonyítva ($1,48 \pm 0,31$ vs. $2,23 \pm 0,79$, $p = 0,015$).

Szolubilis citokinek

Szignifikánsan alacsonyabb IL-10 szinteket mértünk a betegek szérumában, a kontroll értékekhez viszonyítva ($2,71 \pm 2,13$ pg/ml vs. $7,19 \pm 4,16$ pg/ml, $p < 0,001$). Az IL-4 és IFN-gamma esetében nem találtunk eltérést.

A belső szervi érintettség, a bőrérzettség súlyossága és a vizsgált immunparaméterek közötti összefüggések

Tizenkét betegnél mutattunk ki belső szervi érintettséget, melynek eloszlása a következőképpen alakult: PAH $n = 4$, tüdőfibrózis $n = 8$, nyelőcső motilitási zavar $n = 7$, savóshártya gyulladás $n = 1$. A belső szervi érintettséget mutató betegek perifériás vérében szignifikánsan magasabb volt NK sejtek százalékos aránya a csupán bőrtünetektől szenvedők ($15,41 \pm 6,27$ % vs. $9,21 \pm 4,21$ %, $p = 0,014$), illetve az egészséges személyek adataihoz képest ($15,41 \pm 6,27$ % vs. $8,74 \pm 3,74$ %, $p = 0,005$).

Negatív korrelációt tapasztaltunk a betegek módosított Rodnan-féle bőrpontszám értékei és a perifériás Tr1 sejtek százalékos arányai között ($R = -0,485$, $p = 0,026$).

A komplement szintek, az autoantitét pozitívítás és a vizsgált immunparaméterek közötti összefüggések

Negatív korrelációt figyeltünk meg a CD4+ CD25+ Treg sejtarányok, valamint a C3 ($R = -0,531$, $p = 0,013$) és C4 komplement szintek között ($R = -0,515$, $p = 0,017$).

A betegek között 14 esetben volt kimutatható az anti-Scl-70 autoantitét jelenléte a perifériás vérben. Nem találtunk összefüggést az autoantitét jelenléte, illetve titere és a vizsgált immunparaméterek szintjei között.

4.3. A fotoferezis kezelés vizsgálatának eredményei

Bőr-, ízületi és belső szervi érintettség

A betegek módosított Rodnan-féle bőrpontszámában már az első kezelést követően szignifikáns javulást észleltünk ($32,69 \pm 4,36$ vs. $29,81 \pm 3,56$, $p = 0,049$), és a terápia további folytatása során is progresszív csökkenést tapasztaltunk (utolsó kezelés utáni MRSS érték: $20,17 \pm 3,76$). Az ultrahangos vizsgálatok alapján a bőrvastagság jelentős csökkenést mutatott a fotoferezis kezeléseik eredményeként. Statisztikailag szignifikáns különbséget tapasztaltunk a kiindulási és az utolsó kezeléseik után mért értékek között (Felkar: $0,98 \pm 0,28$ mm vs. $0,84 \pm 0,22$ mm, $p = 0,016$; Alkar: $1,01 \pm 0,21$ mm vs. $0,90 \pm 0,19$ mm, $p = 0,017$; Kéz: $1,12 \pm$

0,23 mm vs. $0,99 \pm 0,24$ mm, $p = 0,013$; Ujj: $1,25 \pm 0,24$ mm vs. $1,06 \pm 0,25$ mm, $p < 0,001$). Mindezekén túl javulást tapasztaltunk a betegek orális apertúrájának követése során is, ugyanis szignifikáns különbséget figyeltünk meg a betegek kiindulási és utolsó kezelés utáni értékei között ($2,96 \pm 0,53$ cm vs. $3,84 \pm 0,32$ cm, $p < 0,001$).

Az ízületi mozgásképesesség szintén jelentős javulást mutatott a kezelések hatására, a mozgástartományok szignifikáns növekedését eredményezve a váll- (anteflexio: $143,75 \pm 21,79^\circ$ vs. $164,69 \pm 12,31^\circ$, $p = 0,003$; retroflexio: $47,66 \pm 6,68^\circ$ vs. $55,62 \pm 9,46^\circ$, $p = 0,010$; elevation: $70,47 \pm 4,49^\circ$ vs. $75,31 \pm 8,06^\circ$, $p = 0,044$) könyök- (flexio: $56,87 \pm 11,27^\circ$ vs. $69,37 \pm 9,32^\circ$, $p = 0,002$) és térdízületben (flexio: $76,66 \pm 14,35^\circ$ vs. $87,17 \pm 13,85^\circ$, $p = 0,049$) a kezelések végeztével.

Tizenhárom betegnél diagnosztizáltunk a kezelések megkezdése előtt szervi érintettséget, amelyek eloszlása az alábbi volt: PAH $n = 3$; pulmonális fibrózis $n = 9$; nyelőcső motilitási zavar $n = 4$, savóshártya gyulladás $n = 1$. Bár a kezelések hatására nem javultak, azonban a terápia során rosszabbodást sem mutattak a betegek belső szervi manifesztációi.

Perifériás B, T, NK és NKT sejtek

Tanulmányunk során nem találtunk szignifikáns különbséget a perifériás CD3+, CD4+, CD8+ T-sejtek és B-sejtek értékei esetében a betegek és kontroll személyek között. Az aktivált T-sejtek vizsgálata során a késői aktivációt mutató T-sejtek a betegekben szignifikánsan magasabb százalékos arányt mutattak, mint az egészséges személyekben ($3,72 \pm 1,59$ % vs. $2,24 \pm 1,43$ %, $p = 0,018$), mely értékek a fotoferezis kezelésekre hatására nem változtak számottevő mértékben.

A CD95+ B-sejtek értékei nem mutattak érdemi eltérést, azonban a CD95+ T-sejtek esetében mind a sejtszám, mind a százalékos arány magasabbnak adódott a betegekben a kezelések megkezdése előtt a kontroll értékekhez viszonyítva (sejtszám: $0,485 \pm 0,164$ G/l vs. $0,342 \pm 0,139$ G/l, $p = 0,007$; sejtarány: $42,95 \pm 7,65$ % vs. $32,53 \pm 5,91$ %, $p < 0,001$). Megfigyeléseink alapján ezen értékek már az első ECP ciklust követően szignifikánsan csökkentek a kiindulási adatokhoz képest (sejtszám: $0,373 \pm 0,131$ G/l vs. $0,485 \pm 0,164$ G/l, $p = 0,035$; sejtarány: $35,22 \pm 6,94$ % vs. $42,95 \pm 7,65$ %, $p = 0,003$), és az egészséges kontrollokéhoz váltak hasonlóvá.

Az NK sejtek abszolút száma, és százalékos aránya is magasabb volt a betegekben a kontrollhoz képest (sejtszám: $0,199 \pm 0,102$ G/l vs. $0,131 \pm 0,038$ G/l, $p = 0,043$; sejtarány: $13,16 \pm 6,65$ % vs. $9,01 \pm 3,77$ %, $p = 0,038$). Ezzel szemben az NKT sejtek értékei a betegekben szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyultak az egészségesekéhez viszonyítva

(sejtszám: $0,0194 \pm 0,0177$ G/l vs. $0,0399 \pm 0,0284$ G/l, $p = 0,041$; sejtarány: $1,18 \pm 1,04$ % vs. $2,16 \pm 1,59$ %, $p = 0,047$). Az eredményeink alapján megállapítható, hogy a fotoferezis terápia nem volt érdemi hatással e sejttípusok értékeire.

Perifériás Th1, Th2 és Th17 sejtek

A Th1 sejtek száma és aránya szignifikánsan alacsonyabbnak adódott a betegekben a kontrollhoz képest (sejtszám: $0,119 \pm 0,067$ G/l vs. $0,167 \pm 0,045$ G/l, $p = 0,034$; sejtarány: $13,72 \pm 5,23$ % vs. $18,25 \pm 4,71$ %, $p = 0,017$), azonban a megfigyelt eltérésre nem volt hatással a fotoferezis terápia. A Th2 sejtek kvantitatív értékei hasonlóak voltak a betegekben és egészségesekben is, és szintén nem mutattak változást a kezelések hatására.

A Th17 sejtek adatai a kezelések megkezdése előtt szignifikánsan magasabbak voltak a betegekben a kontrollkéhez képest (sejtszám: $0,0129 \pm 0,0062$ G/l vs. $0,0073 \pm 0,0034$ G/l, $p = 0,007$; sejtarány: $1,61 \pm 0,74$ % vs. $1,09 \pm 0,48$ %, $p = 0,025$), azonban már a második kezelést követően jelentősen csökkentek (sejtszám: $0,0085 \pm 0,0032$ G/l vs. $0,0129 \pm 0,0062$ G/l, $p = 0,021$; sejtarány: $1,14 \pm 0,37$ % vs. $1,61 \pm 0,74$ %, $p = 0,032$) és hasonlókká váltak a kontroll értékekhez.

Perifériás regulatív T-sejtek

Mind a Tr1, mind a CD4+ CD25+ Treg sejtek csökkent sejtszámban és százalékos arányban voltak jelen a betegek perifériás vérében a kezelések megkezdése előtt a kontroll adatokhoz képest (Tr1 sejtszám: $0,00347 \pm 0,00126$ G/l vs. $0,00691 \pm 0,00254$ G/l, $p < 0,001$; Tr1 sejtarány: $0,45 \pm 0,17$ % vs. $0,84 \pm 0,33$ %, $p < 0,001$; CD4+ CD25+ Treg sejtszám: $0,0359 \pm 0,0094$ G/l vs. $0,0479 \pm 0,0075$ G/l, $p = 0,001$; CD4+ CD25+ Treg sejtarány: $4,88 \pm 1,17$ % vs. $6,14 \pm 0,93$ %, $p = 0,002$). A fotoferezis kezelése során viszont már a második ciklust követően szignifikáns emelkedést mutattak mindkét sejttípus értékei a kiindulási adatokhoz képest (Tr1 sejtszám: $0,00442 \pm 0,00108$ G/l vs. $0,00347 \pm 0,00126$ G/l, $p = 0,041$; Tr1 sejtarány: $0,59 \pm 0,19$ % vs. $0,45 \pm 0,17$ %, $p = 0,043$; CD4+ CD25+ Treg sejtszám: $0,0454 \pm 0,0138$ G/l vs. $0,0359 \pm 0,0094$ G/l, $p = 0,048$; CD4+ CD25+ Treg sejtarány: $6,02 \pm 1,48$ % vs. $4,88 \pm 1,17$ %, $p = 0,021$).

CD4+ CD25+ Treg sejtek szuppresszor aktivitása

Az in vitro funkcionális tesztek eredményei alapján a CD4+ CD25+ Treg sejtek szuppressziós aktivitása alacsonyabb volt a betegekben az egészségesekéhez képest ($1,66 \pm$

0,30 vs. $2,21 \pm 0,75$, $p = 0,014$), azonban már az első fotoferezis ciklust követően szignifikáns javulást tapasztaltunk a kiindulási értékekhez képest ($2,29 \pm 0,46$ vs. $1,66 \pm 0,30$, $p < 0,001$).

Szérum citokin szintek

Az eredményeink alapján a betegek IL-10 citokin szintje szignifikáns emelkedést mutatott a második kezelési ciklust követően ($5,18 \pm 4,38$ pg/ml vs. $2,15 \pm 2,01$ pg/ml, $p = 0,022$). Az IL-1RA szintjének változása statisztikailag szignifikáns növekvő tendenciát mutatott ($F = 2,919$, $p = 0,028$). A pro-fibrotikus hatású TGF-béta szintje már az első kezelést követően szignifikánsan csökkent a kiindulási adatokhoz viszonyítva ($1,28 \pm 0,46$ pg/ml vs. $1,77 \pm 0,84$ pg/ml, $p = 0,049$), míg az anti-fibrotikus HGF koncentrációja statisztikailag szignifikáns növekvő tendenciát mutatott ($F = 2,687$, $p = 0,041$). A CCL2 kemokin szintek szignifikánsan csökkentek már a második fotoferezis ciklust követően, a kezdeti értékekhez képest ($377,99 \pm 83,62$ pg/ml vs. $463,11 \pm 115,01$ pg/ml, $p = 0,037$).

Szérum autoantitestek

A betegek között 15 személynél igazolódott anti-Scl-70 antitest pozitivitás. A kezelések hatására nem következett be változás a betegek autoantitest szintjeiben.

Korrelációk a vizsgált immunparaméterek között

Az adatok statisztikai feldolgozása során negatív korrelációt tapasztaltunk a CD95+ T-sejtek és a CD4+ CD25+ Treg sejtek értékeiben a fotoferezis kezelése során mért változások (az utolsó kezelés utáni értékek és a kiindulási adatok hányadosa) között (sejtszámok: $R = -0,507$, $p = 0,048$; sejtarányok: $R = -0,514$, $p = 0,042$).

A terápia befejezését követően negatív korreláció fejlődött ki a korai, és a késői aktivált T-sejtek százalékos aránya és a CD4+ CD25+ Treg sejtek in vitro szuppressziós aktivitása között (korai aktivált T-sejtek: $R = -0,520$, $p = 0,039$; késői aktivált T-sejtek: $R = -0,526$, $p = 0,036$).

Összefüggések a klinikai állapotjavulás és a vizsgált immunparaméterek változása között

Eredményeink alapján szignifikáns korreláció áll fenn a Th17 sejtek számának és százalékos arányának csökkenése és a bőrvastagság ultrahangos vizsgálattal mért mérséklődése között (3. ujj bázisán végzett UH mérés esetén Th17 sejtszám: $R = 0,784$, $p = 0,001$; Th17 sejtarány: $R = 0,649$, $p = 0,009$; illetve alkaron végzett UH mérés esetén: Th17 sejtszám: $R = 0,532$, $p = 0,043$; Th17 sejtarány: $R = 0,518$, $p = 0,048$).

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. A Sjögren-szindrómás betegeken végzett vizsgálatok

Eredményeink azt mutatják, hogy Sjögren-szindrómában a regulatórikus aktivitású immunkompetens sejtek egyes típusai az egészséges személyekben mért értékektől eltérő mennyiségben vannak jelen a perifériás vérben. Hipotézisünk szerint az emelkedett NK és NKT sejtarányok pSS-ben egy fokozott ellenregulációs reakció részét képezhetik, mely által a szervezet a krónikusan perzisztáló, patológiás immunreaktivitás egyensúlyozására törekszik. Azon pSS betegeken, akiknél az exokrin funkció csökkenés mellett extraglanduláris tünetek is jelentkeznek, az NKT sejtek aránya jelentősen magasabb a csak száraz panaszoktól szenvedőkéhez képest. Az NK és NKT sejtekhez hasonlóan a Tr1 sejtek esetében is megfigyelhető a sejtarány emelkedése a betegek perifériás vérében, sőt a szisztémás tüneteket mutatóknál ugyanúgy kifejezettebb a növekedés, ami szintén alátámasztja a kompenzáló immunmechanizmusok jelenlétét a betegség lefolyása során.

A perifériás CD4+ CD25+ Treg sejtek csökkent százalékos arányát figyeltük meg a betegségben, mely alapján feltételezhető, hogy az immunregulációban kulcsszerepet betöltő CD4+ CD25+ Treg sejtek kisebb számban nem képesek megfelelően kontrollálni pSS-ben az autoreaktív immunfolyamatokat. Érdekes módon a szisztémás tünetektől szenvedő betegek vérében a CD4+ CD25+ Treg sejtek aránya magasabbnak adódott a glanduláris formákban megfigyelhető szinteknél, azonban így is a kontroll értékek alatt maradt. Mindez alátámasztja, hogy a klinikai kép súlyosbodásával párhuzamosan felerősödnek a szervezet ellenregulációs mechanizmusai, emelkedik a regulatív T-sejtarány, azonban az egészségeshez viszonyítva továbbra is csökkent szintje nem képes kontroll alatt tartani az autoimmun folyamatokat.

A CD4+ CD25+ regulatív T-sejtek funkcióját jelentősen befolyásolja a lokális citokin milió. Tanulmányok kimutatták, hogy bizonyos gyulladáscsökkentő citokinek, úgy mint a TNF-alfa és az IL-6 fokozott termelődése képes megzavarni a regulatív T-sejtek képződését és szuppresszor működését, továbbá az így megváltozott citokin profil hatására az autoagresszív T-sejt klónok rezisztenssé válnak a Treg sejtek reguláló aktivitásával szemben. Kutatásunk során mind a TNF-alfa, mind az IL-6 citokin esetében emelkedett szinteket mértünk a pSS betegek szérumában, mely felvetette annak lehetőségét, hogy primer Sjögren-szindrómában a citokinek fokozott termelődése gátolhatja a regulatív T-sejtek immunszabályozó képességét. Ezért a CD4+ CD25+ Treg sejtek kvantitatív eltérései mellett az esetleges kvalitatív zavarait is megvizsgáltuk a betegségben. Az in vitro funkcionális teszt során a CD4+ CD25+ T-sejtek

károsodott szuppresszor képességét tapasztaltuk, mely alapján a megváltozott sejtarányok mellett a csökkent sejtfunkció is fontos tényező a regulatív működés elégtelenné válásában.

A pSS betegek szérumában szignifikánsan csökkent IL-10 szinteket mértünk az egészséges kontroll személyek értékeihez képest. Az IL-10 központi szerepet játszik az immunválasz kontrollálásában. Érdekes módon az eredményeink arra utalnak, hogy bár az erősödő ellenregulációs folyamatok részeként az IL-10-termelő Tr1 sejtek jelenléte fokozódik a pSS betegek perifériás vérében, azonban az IL-10 szintek az egészséges személyek értékei alatt maradnak. Továbbá a perifériás Tr1 sejtarányok és a szérum IL-10 szintek között megfigyelt negatív korreláció felveti a Tr1 sejtek elégtelen anti-inflammatórikus citokinszekretáló képességét a betegségben.

A klinikai vizsgálati eredmények feldolgozása során negatív korrelációt figyeltünk meg a regulatív T-sejtek százalékos értékei és a betegek szialometriás eredményei között. A csökkent szekréciós képesség a Sjögren-szindróma patogenezisének sarokpontja, és összefügg a betegség súlyosságával. Megfigyeléseink alapján összességében elmondható, hogy a klinikai kép súlyosbodásával párhuzamosan felerősödnek a szervezet ellenregulációs mechanizmusai, melyek azonban nem képesek kontroll alá vonni az autoimmun szövetkárosító folyamatokat, részben a már jelen lévő gyulladáshoz köthető citokin környezet, és az emelkedett IL-6 és TNF-alfa szintek következtében.

5.2. A szisztémás sclerosisos betegeken végzett vizsgálatok

Tanulmányunk során a diffúz cutan SSc-ben szenvedő betegek perifériás vérében szignifikánsan alacsonyabbnak találtuk a CD4+ és CD8+ naív T-sejtek százalékos arányát, míg a CD4+ és CD8+ centrális memória T-sejtek aránya szignifikánsan magasabb értéket mutatott. Mindezen eltérések a krónikusan aktív T-sejt populáció növekedésével együtt egy immunológiailag aktív állapotot reprezentálnak.

Vizsgálataink során a betegek perifériás vérében emelkedett NK sejtarányt mértünk, mely összhangban van az irodalmi adatokkal. Mikor a betegeket két alcsoportra osztottuk a belső szervi érintettség jelenléte, illetve hiánya alapján, a súlyosabb klinikai képet mutató esetekben az NK sejtek értékében jelentősebb emelkedést tapasztaltunk, míg a csak bőrtüneteket mutató betegeknél az egészségesek adatainak megfelelő sejtarányokat mértünk. Az NK sejteknél megfigyelt expanzió kapcsolatban állhat a kifejezettebb gyulladáshoz köthető folyamatokkal, melynek részeként fokozódik az IL-2 és IL-15 citokinek termelődése, ami az NK sejtek proliferációjához vezet a betegségben. A perifériás NKT sejtek százalékos arányai

alacsonyabbnak adódtak a betegek vérében, mely alapján arra következtethetünk, hogy a patológiás immunfolyamatok az NK sejtek mellett az NKT sejtekre is hatással vannak.

A Th1 és Th2 sejtprofil célzó vizsgálataink során szignifikánsan csökkent Th1 sejtarányt tapasztaltunk a betegek perifériás vérében. Bár az egészséges kontrollok adataihoz képest a Th2 sejtek értékei, illetve a Th1 és Th2 sejtek által termelt citokinek szintjei nem mutattak eltérést a betegek vizsgálata során, továbbá a Th1/Th2 sejtarányban megfigyelt változás nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet, az általunk mért eredmények sem megerősíteni, sem cáfolni nem tudják a Th1/Th2 egyensúly megbomlásának hipotézisét.

A Th17 sejtek felfedezése új utakat nyitott a különböző autoimmun folyamatok megértéséhez, és számos autoimmun betegség kifejlődésében sikerült alátámasztani e sejttípus központi szerepét. Vizsgálataink során a perifériás Th17 sejtek fokozott jelenléte mellett, a CD4+ CD25+ Treg sejtek csökkent százalékos arányát tapasztaltuk a betegek vérében. Ennek következtében a Th17/CD4+ CD25+ Treg sejtek aránya megváltozott, kibillentve az érzékeny immunológiai egyensúlyt a fokozott immunreaktivitás irányába. Kutatásunk során vizsgáltuk a CD4+ CD25+ Treg sejtek in vitro szuppresszor aktivitását is, és az általunk megfigyelt csökkent szuppresszor képesség alapján a CD4+ CD25+ Treg sejteknek nem csupán a csökkent perifériás jelenléte, hanem a megváltozott funkciója is szerepet játszhat az elégtelen immunregulációs képességükben.

Tanulmányunk során az IL-10 termelő Tr1 sejtek csökkent százalékos aránya mellett az IL-10 citokin alacsonyabb szintjét figyeltük meg a betegek perifériás vérében. Az IL-10 termelése a T-sejteken kívül a B-sejtekhez és egyéb PBMCs-hez is köthető. Egy nemrég készült vizsgálat kimutatta, hogy a PBMCs IL-10 termelő képessége az SSc betegekben az egészségesekéhez hasonló, azonban stimuláció hatására jelentősebben fokozódik a PBMCs IL-10 szekréciójának a mértéke. Ezek a megfigyelések valószínűleg egyfajta fokozott ellenregulációs folyamat részjelenségére utalnak, mely vélhetően a Tr1 sejtek által csökkent mennyiségben termelődő IL10 citokin szintjének a kompenzációjára törekszik a betegségben.

A bőrérzettség súlyossága és a vizsgált laboratóriumi paraméterek közötti összefüggés vizsgálata során negatív korrelációt tapasztaltunk a módosított Rodnan-féle bőrpontszám értékek és a Tr1 sejtek százalékos arányai között. Mindezek alapján azt feltételezzük, hogy az egyre csökkenő Tr1 sejtszámmal párhuzamosan elégtelenné váló regulatív mechanizmusok nem képesek kontroll alatt tartani az autoimmun folyamatokat, ezáltal mind súlyosabb klinikai tünetekhez vezetnek.

Bár a szakirodalom a komplement útvonalat ritkán tartja az SSc patogenezisében fontos szerepet játszó tényezőnek, a betegségben gyakran megfigyelhető a

hipokomplementémia, mely az eredményeink alapján összefüggésben állhat a megváltozott CD4+ CD25+ Treg sejtszámmal, ezáltal a károsodott immunregulációs profillal.

5.3. A fotoferezis kezelés klinikai és immunológiai hatásai

Vizsgálataink során egyértelmű javulást tapasztaltunk a betegek klinikai állapotában a fotoferezis kezeléseket követően. A bőrtünetek súlyosságát jelző MRSS pontszám csökkent, az ízületi mozgástartomány és az orális apertúra nőtt, illetve a mimikai funkciók is javultak. Mindezen megfigyeléseink összhangban állnak a korábbi vizsgálatok eredményeivel. Fontos hangsúlyozni, hogy mivel előttünk még senki nem vizsgálta a fotoferezis kezeléseket részletes immunbiológiai hatásait szisztémás sclerosisban, az általunk megfigyelt laboratóriumi eredményeket csak az egyéb betegségekben alkalmazott ECP kezelés immunológiai következményeivel tudjuk összehasonlítani.

Az eddigi ismereteink alapján az SSc elsődlegesen egy vaszkuláris betegség, melynek létrejöttében autoimmun mechanizmusok játszanak szerepet, az érintett szövetek fibrózisát eredményezve. A korábbi tanulmányok az NK és NKT mellett a Th17, Tr1 és CD4+ CD25+ Treg sejtek esetén is megváltozott kvantitatív és kvalitatív tulajdonságokat tapasztaltak SSc-ben. Vizsgálati eredményeink hasonlóan megváltozott NK és NKT sejtarányokat, továbbá csökkent Th1, Tr1, CD4+ CD25+ Treg és emelkedett Th17 sejtszámot igazoltak az SSc betegek perifériás vérében. Mindez arra utal, hogy a regulatív és effektor funkciójú CD4+ T-sejtek arányának eltolódása fontos szerepet játszik az érzékeny szabályozási egyensúlynak a fokozott immunreaktivitás irányába való kibillentésében.

Az ECP kezeléseket, úgy tűnik kifejezettebb hatással vannak az egyes T-sejt altípusokra, mint az NK vagy az NKT sejtszámokra. Korábbi kutatások, melyek a fotoferezis immunológiai hatását vizsgálták GVHD-ban, úgy találták, hogy az autoreaktív sejtek direkt eliminációja mellett a perifériás CD4+ CD25+ Treg sejtek aránya is megemelkedik. Mi szintén tapasztaltuk a perifériás CD4+ CD25+ Treg sejtek számának és arányának növekedését az ECP kezelésekre hatására. Fontos hangsúlyozni, hogy a CD4+ CD25+ Treg értékek emelkedésével párhuzamosan a CD95+ T-sejtek adatai csökkenést mutattak. A CD95, vagy más néven Fas receptor (FasR) fontos központi szerepet játszik a programozott sejthalál kiváltásában. Az aktivált lymphocyták jellemzője a fokozott CD95 expresszió, mely a túlzott mértékben aktivált, illetve autoreaktív sejtek apoptózisa által fontos tényező az immunválasz kontrollálásában. Megfigyelésünk szerint tehát a kezdetben emelkedett CD95+ T-sejtszám az ECP kezeléseket során fokozatosan csökkent, és ez a változás prominensebbnek bizonyult

azoknál a betegeknél, akiknél kifejezettebb volt a CD4+ CD25+ Treg sejtszám növekedés. Az in vitro funkcionális vizsgálatok tanúsága szerint az ECP kezelés hatására a CD4+ CD25+ Treg sejtek szuppresszor működése jelentősen javult, sőt a kezelések befejeztével negatív korreláció alakult ki a szuppresszor aktivitás és a korai, illetve késői aktivált T-sejtek értékei között. Mindezek a megfigyelések aláhúzzák a CD4+ CD25+ Treg sejtműködés kiemelkedő szerepét a fokozott autoreaktív immunfolyamatok csillapításában.

Mindemellett azonban a CD4+ T-sejt alcsoportokat érintő változások jóval komplexebbnek tűnnek. A fotoferezis növeli a regulatív tulajdonságú IL-10-termelő Tr1 sejtek számát és arányát a betegek perifériás vérében, míg az autoimmun és pro-fibrotikus folyamatokban kulcsszerepet játszó Th17 sejtekét csökkenti. Eredményeink alapján azokban a betegeknél, akik esetében kifejezettebb bőrvastagság csökkenés volt tapasztalható, a Th17 sejtek számának és arányának csökkenése nagyobb mértékű volt.

A tapasztalataink alapján a dominálónan pro-inflammatórikus hatású citokinek nem mutattak változást a fotoferezis hatására. Az anti-inflammatórikus citokinek közül az IL-10 citokin szintek mutattak emelkedést, mely változás összhangban állhat az ECP terápia következtében növekedést mutató Tr1 értékekkel. Az IL-10 mellett az IL-1RA citokin koncentrációi is nőttek. Az IL-1RA kompetitíven kötődik a sejtek IL-1 sejt felszíni receptorához, ezáltal gátolja az IL-1 citokinek pro-inflammatórikus hatásait. Mivel az IL-1-béta citokin gátolja a CD4+ CD25+ Treg sejtek szuppresszor képességét, és elősegíti a Th17 irányú sejt differenciálódást, az IL-1RA szintjének növekedése, az emelkedett IL-10 koncentrációval együtt hozzájárulhat a fokozott immunfolyamatok csillapításához.

A fibrotikus folyamatokat tekintve egyre több eredmény támasztja alá a szöveteket infiltráló aktivált makrofágok és T-sejtek szerepét a pro-fibrotikus tulajdonságú TGF- β , CCL2, IL-2, IL-4, IL-6 és IL-17 termelésében. A kezelések hatására szignifikánsan csökkentek a TGF- β és CCL2 szintek, csökkent pro-fibrotikus aktivitást jelezve, mely részben magyarázza a klinikai tünetek javulását. Egy tanulmány nemrég alacsonyabb HGF szintről számolt be SSc-ben, mely hozzájárulhat az elégtelen vaszkuláris reparációhoz és a fokozott fibrogenézishez. Vizsgálataink alapján a fotoferezis terápia a HGF szintek emelkedéséhez vezet, melynek szintén szerepe lehet a fibrotikus folyamatok mérséklésében.

Bár a fotoferezis valószínűleg nem képes megszüntetni a korábban már kifejlődött szöveti fibrózist SSc-ben, azonban jelentősen hozzájárul a betegség progressziójának gátlásához. Mindemellett a betegeink egyikénél sem jelentkeztek mellékhatások a fotoferezis kezeléseket követően, mely megerősíti a kezelés minimális toxicitásának jelentőségét, ami egyértelmű előny a többi immunmoduláns terápiával szemben.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A primer Sjögren-szindrómával kapcsolatos vizsgálataink eredményei alapján a betegség során megnyilvánuló patológiás immunmechanizmusokban mind a természetes, mind az adaptív immunrendszer regulatórikus aktivitású elemei érintettek. A perifériás NK, NKT és Tr1 sejtarányok emelkedése valószínűleg egy fokozott ellenregulációs mechanizmus része, ami az autoimmun folyamat által kiváltott krónikus gyulladásos állapot ellensúlyozására törekszik. Ezzel szemben az egészségesek értékeihez képest alacsonyabb CD4+ CD25+ Treg sejtarányokat figyeltünk meg. Elsőként írtuk le a CD4+ CD25+ Treg sejtek csökkent szuppresszor aktivitását a betegségben. Az általunk megfigyelt emelkedett IL-6 és TNF-alfa szérumszintek részben megmagyarázzák a megfigyelt funkcionális eltérést. Eredményeink összességében arra utalnak, hogy a primer Sjögren-szindrómában megfigyelhető elégtelen immunregulációs működés hátterében nem csupán a CD4+ CD25+ Treg sejtek csökkent aránya, hanem azok megváltozott funkciója is áll.

Szisztémás sclerosisban (SSc) a Th17 sejtek fokozott jelenlétét és a regulatórikus funkciójú IL10-termelő Tr1 és CD4+ CD25+ Treg sejtek csökkent arányát mutattuk ki. Az IL-10 szérumszintjét és a CD4+ CD25+ Treg sejtek szuppresszor aktivitását szintén alacsonyabbnak találtuk a betegekben. Mindezen felül negatív korrelációt fedeztünk fel a Tr1 sejtek és a betegek módosított Rodnan-féle bőr-pontszáma között, mely alapján a megváltozott Th17/CD4+ CD25+ Treg arány mellett a Tr1 sejtek is szerepet játszanak a kóros immunfolyamatok fokozódásában SSc-ben.

A fotoferezis klinikai hatékonyságának vizsgálata során a korábbi tanulmányokkal összhangban a betegek jelentős állapotjavulását tapasztaltuk. Mivel a kezelés immunbiológiai hatásait előttünk még nem vizsgálták SSc-ben, ezért minden laboratóriumi eredményünk új megfigyelésnek számít a nemzetközi szakirodalomban.

Vizsgálataink alapján a fotoferezis kezelése a Th17 sejtek számát csökkentik, a Tr1 és CD4+ CD25+ Treg sejtek számát pedig emelik a betegek perifériás vérében, illetve normalizálják az utóbbiak szuppresszor működését. A CCL2 és TGF- β szintek csökkentek, míg az IL-1Ra, IL-10 és HGF szintek emelkedtek. Az ECP kezelés ezáltal hozzájárul a regulatív és effektor immunmechanizmusok egyensúlyának helyreállításához, és a betegség progressziójának gátlásához.

Kapcsolódó előadások, illetve poszterek:

1. 2006. ápr. DEOEC TDK Konferencia, Debrecen: Carpal tunnel szindróma gyakorisága Raynaud-os tünetekkel jelentkező betegek körében [előadás]
2. 2008. ápr. DEOEC TDK Konferencia, Debrecen: A természetes és az adaptív immunrendszer regulatórikus tulajdonságú sejtjeinek vizsgálata primer Sjögren-szindrómában [előadás] – *SCHERING PLOUGH KÜLÖNDÍJ*
3. 2008. szept. MRE 80. Jubileumi Vándorgyűlése, Budapest: A természetes és az adaptív immunrendszer regulatív sejtszociális csoportjaiban bekövetkezett változások primer Sjögren-szindrómában [poszter]
4. 2009. máj. MAKIT XXXVII. Kongresszusa, Balatonalmádi: A CD4+CD25+ regulatív sejtek szerepe primer Sjögren-szindrómában [előadás] – *A LEGJOBB ELŐADÁS DÍJA*
5. 2009. jún. EAACI XXVIII. Congress, Varsó: Distinctive cells of the native and adaptive immune system with regulatory properties in patients with Sjögren's syndrome [poszter]
6. 2009. jún. EAACI XXVIII. Congress, Varsó: Impaired regulatory T-cell homeostasis due to Vitamin D deficiency in Undifferentiated Connective Tissue Disease [poszter]
7. 2009. jún. EAACI XXVIII. Congress, Varsó: Mixed connective tissue disease (MCTD): phenotypes and immunological characteristics [poszter]
8. 2009. okt. 10th International Symposium on Sjögren's Syndrome, Brest: Investigation of cells with regulatory activity in primary Sjögren's syndrome [poszter]
9. 2009. okt. MIT Ifjúsági Kongresszusa, Harkány: Az A-, D- és E-vitaminok immunregulációs szerepe primer Sjögren-szindrómában [előadás]
10. 2009. nov. MTA: A Magyar Tudomány Ünnepe, Debrecen: Immunregulatórikus sejtek szerepe a primer Sjögren-szindróma pathogenezisében [előadás]
11. 2009. nov. KIADI I. PhD Konferencia, Debrecen: Immunregulatórikus sejtek szerepe a primer Sjögren-szindróma pathogenezisében [előadás]
12. 2010. máj. MAKIT XXXVIII. Kongresszusa, Balatonalmádi: A fotoferezis terápia immunológiai hatásának vizsgálata szisztémás sclerosiban [előadás]
13. 2010. jún. EAACI XXIX. Congress, London: Altered T-cell and regulatory cell repertoire in patients with Systemic Sclerosis [poszter]

14. 2010. szept. 8th Central European Congress of Rheumatology, Sopron: Altered cellular immunity in diffuse cutaneous systemic sclerosis [poszter]
15. 2010. nov. MIT XXXIX. Vándorgyűlése, Szeged: A természetes és adaptív immunrendszer sejtjeinek vizsgálata diffúz cutan szisztémás sclerosisban [előadás]
16. 2010. dec. ÖGAI Annual Congress, Bécs: Investigation of certain native and adaptive immune cells and their clinical significance in diffuse cutaneous systemic sclerosis [poszter]
17. 2011. jan. KIADI II. PhD Konferencia, Debrecen: A természetes és adaptív immunrendszer sejtjeinek vizsgálata diffúz cutan szisztémás sclerosisban [előadás]
18. 2011. máj. MAKIT XXXIX. Kongresszusa, Balatonalmádi: Fotoferezis kezelések diffúz cutan szisztémás sclerosisban: Immunbiológiai hatások [előadás]
19. 2011. máj. EULAR Annual Congress, London: Immunological and clinical effects of photopheresis in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis [poszter]
20. 2011. jún. EAACI XXX. Congress, Isztambul: Extracorporeal photochemotherapy in systemic sclerosis [poszter]
21. 2011. aug. TAIM Nemzetközi Alapítvány X. Szakmai Továbbképzése, Debrecen: A fotoferezis kezelések klinikai és immunbiológiai hatásainak vizsgálata diffúz cutan szisztémás sclerosisban [előadás] – *TAIM NEMZETKÖZI ALAPÍTVÁNY PÁLYADÍJA, I. HELYEZÉS*
22. 2011. szept. Meeting at the Department of Rheumatology, Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing: Extracorporeal photochemotherapy in systemic sclerosis [előadás]
23. 2011. szept. MRE 82. Vándorgyűlése, Eger: A fotoferezis terápia hatásai az inflammatorikus és fibrotikus folyamatokra diffúz cutan szisztémás sclerosisban [előadás]
24. 2011. okt. MIT XXXX. Vándorgyűlése, Kecskemét: A fotoferezis kezelés immunológiai és klinikai hatásai [előadás]
25. 2011. nov. MBT ÉK-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülése, Felsőtárkány: Fotoferezis kezelés diffúz cutan szisztémás sclerosisban [előadás]
26. 2011. nov. KIADI III. PhD Konferencia, Debrecen: A fotoferezis kezelések klinikai és immunbiológiai hatásainak vizsgálata diffúz cutan szisztémás sclerosisban [előadás]

Iktatószám: DEENKÉTK /102/2012.

Tételszám:

Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Papp Gábor

Neptun kód: CTWQKX

Doktori Iskola: Petrányi Gyula Klinikai Immunbiológiai és Allergológiai Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Papp, G.**, Horváth, I.F., Baráth, S., Gyimesi, E., Végh, J., Szodoray, P., Zeher, M.:
Immunomodulatory effects of extracorporeal photochemotherapy in systemic sclerosis.
Clin. Immunol. 142 (2), 150-159, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2011.09.014>
IF:3.932 (2010)
2. **Papp, G.**, Horváth, I.F., Baráth, S., Gyimesi, E., Sipka, S., Szodoray, P., Zeher, M.: Altered T-cell and regulatory cell repertoire in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis.
Scand. J. Rheumatol. 40 (3), 205-210, 2011.
IF:2.594 (2010)
3. **Papp G.**, Horváth I.F., Baráth S., Sipka S., Szodoray P., Zeher M.: Immunregulatorikus sejtek vizsgálata primer Sjögren-szindrómában.
Allerg. Klin. Immun. 12 (1), 28-33, 2009.
4. Szodoray, P., **Papp, G.**, Horváth, I.F., Baráth, S., Sipka, S., Nakken, B., Zeher, M.: Cells with regulatory function of the innate and adaptive immune system in primary Sjögren's syndrome.
Clin. Exp. Immunol. 157 (3), 343-349, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.03966.x>
IF:3.009



További Közlemények

5. Szodoray, P., Váróczy, L., **Papp, G.**, Baráth, S., Nakken, B., Szegedi, G., Zeher, M.: Immunological reconstitution after autologous stem cell transplantation in patients with refractory systemic autoimmune diseases.
Scand. J. Rheumatol. 41 (2), 110-115, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/03009742.2011.606788>
IF:2.594 (2010)
6. Takáts A., Garai I., **Papp G.**, Hevér T., Csiki E., András C., Csiki Z.: Raynaud-szindróma, 2011.
Orv. Hetil. 153 (11), 403-409, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2012.29321>
7. Zilahi, E., Tarr, T., **Papp, G.**, Griger, Z., Sipka, S., Zeher, M.: Increased microRNA-146a/b, TRAF6 gene and decreased IRAK1 gene expressions in the peripheral mononuclear cells of patients with Sjögren's syndrome.
Immunol. Lett. 141 (2), 165-168, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2011.09.006>
IF:2.511 (2010)
8. Baráth S., Tarr T., Bodolay E., **Papp G.**, Illés Á., Soltész P., Szegedi A., Zeher M., Sipka S.: A CD3+Foxp3+ regulációs T-lymphocyták vizsgálata immunológiai és immunhematológiai kórképekben.
Magyar Belorv. Arch. 64, 99-103, 2011.
9. Csiki Z., Kovács D., Csiki E., András C., **Papp G.**, Paragh G.: A laktózérzékenység gyakorlati vonatkozásai.
Metabolizmus 9 (3), 180-183, 2011.
10. Csiki, Z., Garai, I., Shemirani, A., **Papp, G.**, Zsóri, K.S., András, C., Zeher, M.: The effect of metoprolol alone and combined metoprolol-felodipin on the digital microcirculation of patients with primary Raynaud's syndrome.
Microvasc. Res. 82 (1), 84-87, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mvr.2011.04.004>
IF:2.39 (2010)
11. Zeher, M., **Papp, G.**, Szodoray, P.: Autologous haemopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases.
Expert Opin. Biol. Ther. 11 (9), 1193-1201, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1517/14712598.2011.580272>

IF:3.279 (2010)

12. Csiki Z., Zeher M., **Papp G.**, András C., Takáts A., Csiki E.: Pre- pro- és szinbiotikumok szerepe, kedvező élettani hatásai.
Metabolizmus 8 (5), 294-299, 2010.
13. Szodoray, P., **Papp, G.**, Nakken, B., Harangi, M., Zeher, M.: The molecular and clinical rationale of extracorporeal photochemotherapy in autoimmune diseases, malignancies and transplantation.
Autoimmun. Rev. 9 (6), 459-464, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2009.12.011>
IF:6.556
14. Szodoray, P., Horváth, I.F., **Papp, G.**, Baráth, S., Gyimesi, E., Csáthy, L., Kappelmayer, J., Sipka, S., Duttaroy, A.K., Nakken, B., Zeher, M.: The immunoregulatory role of vitamins A, D and E in patients with primary Sjogren's syndrome.
Rheumatology (Oxford). 49 (2), 211-217, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/kep374>
IF:4.171
15. Illés, Á., Váróczy, L., **Papp, G.**, Wilson, C.P., Alex, P., Jonsson, R., Kovács, T., Konttinen, Y.T., Zeher, M., Nakken, B., Szodoray, P.: Aspects of B-cell non-Hodgkin's lymphoma development: A transition from immune-reactivity to malignancy.
Scand. J. Immunol. 69 (5), 387-400, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.2009.02237.x>
IF:2.108

Összesített impakt faktor: 33.144

Összesített impakt faktor: (értekezés alapjául szolgáló közlemények esetén): 9.535

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

Debrecen, 2012.04.02

