

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**A FŐ HISZTOKOMPATIBILITÁSI RENDSZER (MHC)
POLIMORFIZMUSAINAK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ
AUTOIMMUN BETEGSÉGEKBEN**

Kapitány Anikó



DEBRECENI EGYETEM
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2009

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A FŐ HISZTOKOMPATIBILITÁSI RENDSZER (MHC)
POLIMORFIZMUSAINAK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ AUTOIMMUN
BETEGSÉGEKBEN

Kapitány Anikó

Témavezető:

Prof. Dr. Sipka Sándor

DEBRECENI EGYETEM
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2009

Témavezető: Prof. Dr. Sipka Sándor, az MTA doktora

Klinikai Orvostudományok doktori iskola

Vezető: Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora

Immunológia doktori program

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

A Szigorlati Bizottság elnöke:

Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora

A Szigorlati Bizottság tagjai:

Dr. Palatka Károly, Ph.D.

Dr. Nagy György, Ph.D.

A Védési Bizottság elnöke:

Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora

Opponensek:

Prof. Dr. Banai János, kandidátus

Dr. Surányi Péter, kandidátus

A Védési Bizottság tagjai:

Dr. Palatka Károly, Ph.D.

Dr. Nagy György, Ph.D.

Az értekezés védésének időpontja és helye:

2009. november 11. 13.00 h DEOEC I.sz. Belgyógyászati Klinika Tanterme

Bevezetés

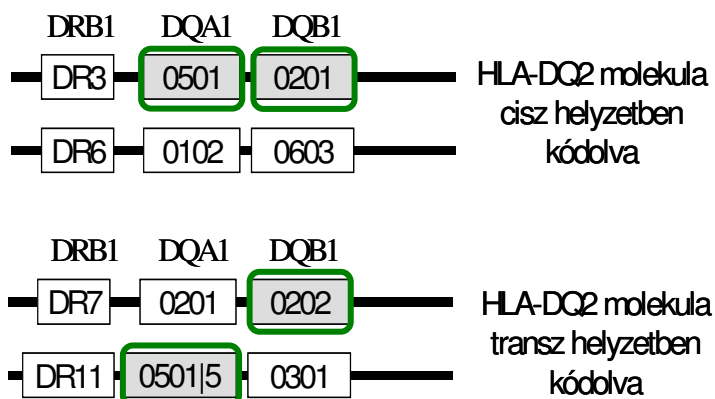
Coeliakia

A coeliakia az európai népesség közel 1%-ában előforduló krónikus betegség, melynek lényege a gluténnal (búza, árpa, rozs, zab) szembeni intolerancia. Bár a coeliakia nem tartozik a klasszikus autoimmun betegségek közé, de a betegekben a vékonybél nyálkahártya károsodással járó autoimmun folyamat során betegség specifikus autoantitestek termelődnek a szervezetben előforduló transzglutamináz (TG) enzim ellen (endomysium ellenanyag, EMA). A coeliakia diagnózisa megbízhatóan felállítható a szövettani vizsgálatokkal kimutatott súlyos boholyatrophia fennállására és a coeliakia specifikus autoantitestek (TG ellenanyag és EMA) pozitívitására alapozva. A betegség tünetei: hasmenés, hasi fájdalom, alultápláltság, felszívódási zavarok és ebből eredően vitamin- és vashiány, anaemia, hypoproteinaemia. A kórképre jellemző malabszorpció a vékonybél nyálkahártya károsodásának következtében alakul ki és különböző súlyosságú lehet. A glutén eliminálása az étrendből teljes remisszióhoz vezet.

A genetikai faktorok szerepét a betegség kialakulásában jelzi, hogy a betegek elsőfokú rokonainak kb. 10%-a ugyancsak coeliákiás, valamint hogy egypetűjű ikrek esetében >70% az előfordulási gyakoriság. A genetikai vizsgálatok rávilágítottak arra is, hogy a betegek több mint 90%-ában expresszálódnak a HLA-DQ2 vagy HLA-DQ8 molekulák. Azoknál a személyeknél, akiknél sem a DQ2 sem a DQ8 molekula nincs jelen, a coeliákia kialakulásának valószínűsége elhanyagolható, mivel ezen molekulák szükségesek az antigén bemutatásához. A HLA molekulák megkötik a gliadin peptideket és bemutatják a T-sejtek számára. A HLA-DQ2 és DQ8 molekulák a negatív töltéseket preferálják, de a gluténben kevés a negatív töltés. A szervezetben jelen levő szöveti transzglutamináz a glutamin residuumokat glutaminsavvá alakítja, melyek így már képesek kötődni a DQ2 és DQ8 molekulákhoz, melyek bemutatják őket a T-sejteknek. A T-sejtes immunválasz eredményeként jön létre az epitheliális sejtek hyperplasiája, valamint a villusatrophia. A HLA-DQ2 és HLA-DQ8 molekulák jelenléte tehát szükséges a betegség kialakulásához, de nem elegendő, ugyanis ezen allélok az egészséges populáció 20-30%-ában is megtalálhatóak.

A HLA molekulák egy alfa és egy béta láncból állnak. A HLA-DQ2 heterodimer alfa láncát a DQA1*0501 vagy *0505, béta láncát a DQB1*0201 vagy *0202 allél kódolja, a DQ8 molekula alfa láncát a DQA1*0301, béta láncát pedig a DQB1*0302 allél kódolja. Linkage disequilibrium kapcsolat jellemző a HLA-DQ2 molekula és főként a HLA-DR3 és DR7/DR11 molekulák kapcsolatára, azaz gyakrabban öröklődnek együtt, mint az a véletlenszerű eloszlás

alapján várható lenne. A HLA-DR3 molekulákkal kapcsolatos a DQ2 molekula alfa és béta láncát kódoló gének azonos kromoszómán, cisz helyzetben helyezkednek el, míg DR7/DR11 heterozigóta személyek esetében a két lánc különböző kromoszómán, transz helyzetben van kódolva.



1. ábra A HLA-DQ2 molekulát kódoló gének azonos kromoszómán (cisz helyzetben), vagy különböző kromoszómán (transz helyzetben) helyezkedhetnek el.

A HLA-DQ allélok vizsgálatának klinikai jelentősége lehet a családtagok veszélyeztetettségének felmérésében és a coeliakia differenciáldiagnosztikájában. A vékonybélben észlelhető szövettani eltérések, különösen a boholatrophia részleges formái, ugyanis más betegségekben is előfordulhatnak, illetve a metszetek értékelését gyakran nehezítik technikai problémák, mint a nem megfelelő orientáció vagy az anyag mechanikus károsodottsága.

Rheumatoid arthritis

A rheumatoid arthritis (RA) elsősorban a kisízületeket szimmetrikusan érintő, krónikus, gyulladásos, progresszív, destruktív kórkép, mely megfelelő kezelés hiányában az ízületek tönkremeneteléhez, mozgáskorlátozottsághoz, esetleg tartós rokkantsághoz vezet.

A rheumatoid arthritis diagnózisának felállítása a klinikai tünetek és a laboratóriumi vizsgálatok eredményeinek együttes figyelembevételével történik. Több autoantitest is összefüggésbe hozható a betegség aktivitásával és/vagy kimenetelével. Bár mostanáig a rheumatoid faktor immunglobulin M izotípusa volt az RA egyetlen, napi rutinban használt laboratóriumi markere, ezen autoantitest specificitása igen alacsony rheumatoid arthritises betegek esetében, mivel egyéb autoimmun betegségben, vagy fertőző kórképekben szenvedők valamint egészséges idős emberek szérumban is megtalálható. A C reaktív protein a gyulladásos aktivitás érzékeny markere, szintje a szérumban adekvált terápia hatására rendszerint csökken.

Az elmúlt években az anticiklikus-citrullinált peptid (anti-CCP) került előtérbe, mint az RA potenciális diagnosztikus és prognosztikus markere. Az anti-CCP antitest jelenléte igen

specifikus és szenzitív rheumatoid arthritisre nézve. E kórkép anti-CCP antitest meghatározással könnyebben elkülöníthető más arthropátiáktól, sőt mint prognosztikus marker előre vetítheti perzisztens, erozív vagy agresszívebb sinovitis kialakulását. Az anti-CCP antitest vizsgálat értéke felbecsülhetetlen korai RA-ban, mivel az anti-CCP pozitivitás évekkal megelőzheti a klinikai tünetek kialakulását. Néhány kutató korrelációt talált az anti-CCP antitest és a RF pozitivitása között.

Genetikai vizsgálatok rávilágítottak arra, hogy az MHC-II molekulák közül számos HLA-DR allél kapcsolatba hozható a betegségre való fogékonysággal, mitöbb, egyes HLA-DRB1 allélok a betegség súlyosságával és kimenetelével is összefüggésbe hozhatók. A betegség asszociált HLA molekulák a HLA-DRB1 génrégió első doménjának 3. hipervariabilis régiójában közös aminosav szekvenciát hordoznak, ez a közös nukleotid szekvencia az úgynevezett shared epitóp (SE). A betegséggel kapcsolatba hozható SE allélok különbözhetnek az egyes népcsoportokban. Az észak-európai RA-s betegek esetében például a DRB1*04 allélok fordulnak elő nagy gyakorisággal, míg a mediterrán betegpopulációkra inkább a DRB1*01 és DRB1*10 allélok hordozása a jellemző. A DRB1*04 allélok közül a DRB1*0401 és a DRB1*0404 hozható leginkább kapcsolatba a megnövekedett hajlammal a kaukázusi RA-s betegek esetében, míg japán és kínai betegek körében a DRB1*0405 allél fordul elő nagy gyakorisággal. A HLA-DRB1*01 allélok közül a DRB1*0101 szubtypust hozták összefüggésbe a betegséggel az Askenázi zsidó betegek körében, valamint számos különböző kaukázusi betegpopulációban is.

Összefüggés lehet a SE pozitivitás és az anti-CCP antitest termelődése között. Egy vagy két SE allél jelenléte kapcsolatba hozható anti-CCP antitest pozitivitással, ráadásul a betegség kimenetele kedvezőtlenebb lehet anti-CCP antitest termelődése és SE pozitivitás együttes előfordulása esetén. Nagyon kevés információnk van azonban arról, hogy van-e összefüggés a szérum anti-CCP antitest szintje és a HLA-DRB1 expresszió között.

Antifoszfolipid szindrómával társuló és nem társuló SLE

A szisztémás lupus erythromatosus (SLE) olyan autoimmun gyulladáisos megbetegedés, mely különböző szervrendszereket érinthet: bőrt, ízületeket, tüdőt, vesét és az agyat. A betegség jellemzője az immun diszreguláció, mely autoantitest termelődéshez (különösen dsDNS ellen), immunkomplex depozícióhoz, majd következményesen gyulladáshoz és szövetkárosodáshoz vezethet. Számos tanulmány született, melyek szerint bizonyos gének kapcsolatba hozhatók e szisztémás autoimmun betegség kialakulásával.

Az antifoszfolipid szindróma (APS) olyan autoimmun megbetegedés, mely során foszfolipid ellenes antitestek jelennek meg a beteg szérumában olyan klinikai tünetek mellett, mint a trombózis (artériás és vénás is), ismétlődő vetélés, haemolitikus anaemia és trombocytopenia. Az APS előfordulhat primer módon (PAPS), önálló betegségként, de gyakran társul más betegséghez is, leggyakrabban SLE-hez. Ilyen esetekben az APS általában évekkkel az SLE diagnózisa után jelentkezik, szekunder módon (SAPS), de olyan betegek is ismertek, akiknél a PAPS jelentkezett először, majd később alakult ki az SLE. A lupus önmagában is egy heterogén fenotípusú betegség, de a klinikai kép még bonyolultabb, mikor a lupus és az APS egyszerre jelentkezik.

Tarr és mtsai a klinikánk speciális szakrendelésén kezelt 3 SLE-s betegcsoport klinikai jellemzőit hasonlította össze. Az első csoportban tartozó betegeknél először APS-t diagnosztizáltak, majd évekkel később alakult ki az SLE (PAPS+SLE), a második csoportba olyan SLE-s betegek tartoztak, akiknél APS nem alakult ki, a harmadik csoportba sorolt betegeknél a betegség SLE-vel kezdődött, majd ehhez szövődött másodlagosan az APS (SLE+SAPS). A szerzők munkájuk során eltérést találtak a három betegcsoport fenotípusában: a primer és szekunder APS-s betegekben gyakoribbak voltak a trombotikus események, mint a csak lupusos betegekben, bár a trombotikus tünetek és szülészeti szövődmények gyakoribb előfordulása az APS-val szövődött betegekben nem meglepő. A PAPS+SLE és SLE+SAPS csoportokban azonos gyakorisággal fordultak elő a trombotikus komplikációk, viszont a PAPS+SLE-s csoportban szignifikánsabb magasabb volt a szülészeti szövődmények jelenléte az SLE+SAPS csoporthoz viszonyítva. A SLE+SAPS csoportban az alkalmazott antikoaguláns és trombocita aggregáció gátló kezelés ellenére magasabb volt a trombotikus események és szülészeti szövődmények gyakorisága az APS-sel nem szövődött SLE-s csoporthoz képest.

Mind a lupus, mind az APS olyan multifaktoriális eredetű betegség, mely genetikailag meghatározott személyekben alakul ki. Az MHC-II osztály tagjai közül számos HLA-DR és HLA-DQ molekulát összefüggésbe hoztak ezen betegségekkel. A HLA-DR2 és HLA-DR3 molekulákat kódoló DRB1*15 és DRB1*03 allélok hozhatók leginkább kapcsolatba az SLE kialakulásával, ezen allélok jelenléte növelheti leginkább a betegség kialakulásának esélyét bizonyos populációkban. Az APS a DRB1*04 (DR4), DRB1*07(DR7), DRw53 valamint DQ allélek közül a DQB1*0301(DQ7) és DQB1*0302(DQ8) allélekkel hozható leginkább kapcsolatba, valamint ezen allélek gyakori előfordulását figyelték meg bizonyos aPL antitestek előfordulása esetén is (pl. kardiolipin ellenes antitest-aCL).

Célkitűzések

Coeliakia

Mivel azoknál a személyeknél, akiknél sem a HLA-DQ2 sem a HLA-DQ8 molekula nincs jelen, a betegség kialakulásának esélye elhanyagolható, a HLA-DQ tipizálásnak klinikai relevanciája lehet a betegek családtagjainak kockázatának megítélésében, valamint differenciáldiagnosztikai jelentősége lehet bizonytalan diagnózisú betegek esetében más betegség által okozott boholykárosodás fennállásakor. Habár a coeliakia diagnózisának „gold standardja” ma is a vékonybél biopszia, ennek a módszernek számos buktatója létezik. Az olyan jelenségek, mint az intraepitheliális limfocitaszám emelkedés, vagy a villusok megrövidülése nem coeliakia specifikus elváltozások, más betegségekben, például egyes táplálékallergiákban, valamint posztinfekciós károsodások esetében is tapasztalhatók. Mindezek ismeretében célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a HLA-tipizálás jelentőségét olyan esetekben, ahol a betegség diagnózisát korábban kizárólag szövettani eredmények alapján állították fel, EMA vagy transzglutamináz ellenes antitest jelenlétének ismerete nélkül.

Rheumatoid arthritis

I. vizsgálat: A kaukázusi RA-s betegcsoportokban a HLA-DRB1*01 allélok, valamint a HLA-DRB1*04 allélok hozhatók leginkább összefüggésbe a betegség kialakulásával. Célul tűztük ki, hogy meghatározzuk a különböző HLA-DR1 és HLA-DR4 szubtypusok gyakoriságát a DEOEC Reumatológiai Tanszék szakrendelésén kezelt RA-s betegekben egészséges kontroll személyekhez hasonlítva, és megvizsgáljuk, hogy ezen allélok jelenléte az RA diagnosztikus markere lehet-e.

II. vizsgálat: Mivel tudjuk, hogy egy vagy két „shared epitóp” jelenléte és az anti-CCP antitest pozitivitás között összefüggést lehet találni, azonban kevés információnk van arról, hogy az adott HLA-DRB1 allélok expressziója és az anti-CCP antitest szintje között van-e valamilyen kapcsolat, célul tűztük ki ezen összefüggések megfigyelését. Ez az első tanulmány, mely magyar betegeken vizsgálja a shared epitópok és az anti-CCP antitest közötti lehetséges összefüggéseket.

Antifoszfolipid szindrómával társuló és nem társuló SLE

Munkám során a Tarr és mtsai által a klinikánk szakrendelésén kezelt 3 lupusos betegcsoportot (PAPS+SLE, SLE+SAPS és „tisztán” SLE) vizsgáltam tovább. Arra voltunk kíváncsiak, hogy a klinikai jellemzőkben talált eltérések, miszerint a primer- és szekunder APS-s betegekben gyakoriak voltak a trombotikus események és kisebb volt a gyulladásos aktivitás, mint a csak lupusos betegekben, valamint vetélés leggyakrabban a primer APS-ként induló esetekben fordult elő, magyarázhatók-e genetikai különbségekkel? Vajon a betegségek MHC-II profiljában talált különbségek megerősítik-e azt a hipotézist, hogy a PAPS és az SLE két önálló betegségként társul, vagy a PAPS a lupus egyik manifesztációja?

Betegek és módszerek

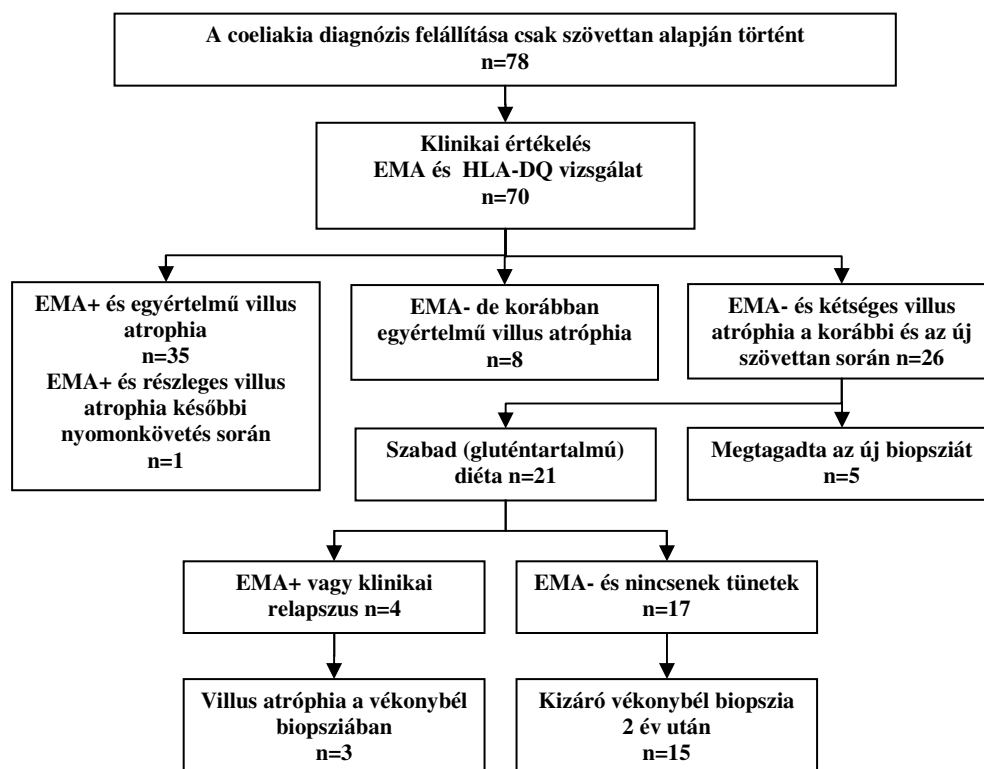
Coeliakia vizsgálatba bevont betegek

A Debreceni Egyetem Gyermekklinikájának betegnyilvántartásából olyan 2002 előtt coeliákiásként diagnosztizált betegeket választottunk ki, akik esetében a diagnózis felállításakor csak szövettani vizsgálat történt, EMA vagy szöveti transzglutamináz ellenes antitest meghatározást nem. Összesen 78 beteg felelt meg a kritériumoknak, közülük 70-en (3-31 év közöttiek, átlagéletkor: 13 év) egyeztek bele a klinikai vizsgálatba. A betegek diagnózisa átlagosan 3 éves koruk körül lett felállítva (tartomány: 1-28 év), valamint 2-25 éve gluténmentes diétát folytattak. Az eredeti (kezdeti) patológiás leleteket, vagy ahol hozzáférhető volt, az eredeti biopszia metszeteket egy pathológus kolléga újra áttekintette, és véleményezte. A szérum EMA és tTG ellenes antitestek meghatározása, valamint a HLA-tipizálás vérből történt.

A diagnózis felállítása után bevezetett diéta hosszát és szigorúságát, valamint a jelenlegi gluténbevitelt rögzítettük. A jelenleg fenntartott diétákat az alábbiak szerint csoportosítottuk: szigorú gluténmentes diéta, nem szigorú gluténmentes diéta és szabad gluténfogyasztás. A résztvevőket saját illetve szüleik elmondása alapján soroltuk be a csoportokba, valamint jelenlegi EMA/anti-tTG eredményeik alapján.

A tünetekkel vagy pozitív szerológiai eredménnyel rendelkezőket, valamint akiknek a régi szövettani biopsziás metszetük elégtelen, vagy nem a diagnózisnak megfelelő volt, újabb vékonybél szövettani vizsgálatnak vetettük alá. Azoknak, akiknél aktív coeliákiának megfelelő szövettani képet kaptunk, szigorú gluténmentes diétát javasoltunk, és nyomon követtük klinikai állapotuk, valamint EMA és tTG ellenes ellenanyag szintjük alakulását. Azokban az esetekben, ha a kezdeti diagnózis bizonytalan volt, vagy a vékonybél biopszia eredménye nem támasztotta alá a coeliakia meglétét, szabad gluténbevitelt javasoltunk a pácienseknek. Szérum EMA és anti-tTG ellenanyag vizsgálatokat 3-6 havonta végeztünk esetükben. Ha az antitest eredményük pozitívvá vált, vagy tünetek megjelenését észleltük, új biopsziát végeztünk. Ha sem antitestek, sem tünetek nem jelentek meg, a biopsziát a szabad gluténfogyasztás megkezdése után 2 évvel végeztük el, a betegség kizárásának céljából párhuzamosan az ESPGAN (European Society of Paediatric Gastroenterology) 1969-ben Interlakenben megfogalmazott eredeti diagnosztikus kritériumaival, melyek a coeliakia diagnózisát szövettani eredményekre alapozták. A vizsgálat folyamatábráját a 2. ábra mutatja.

2. ábra. A 70 lisztérzékeny betegen elvégzett klinikai értékelés, EMA és HLA-DQ vizsgálat folyamatábrája.



Rheumatoid arthritis vizsgálatba bevont betegek

I. vizsgálat: A DEOEC Belgyógyászati Intézet Reumatológiai Tanszékén kezelt 83 RA-ben szenvedő magyar beteget (70 nő, 13 férfi) vontuk be a vizsgálatba. A betegek mindegyike megfelelt az RA 1987-es, módosított klasszifikációs kritériumainak (American College of Rheumatology, ACR). A betegek átlagéletkora 50 ± 15 (SD) év volt (17-82 év között). A betegség átlagos fennállási ideje a vizsgálat idején 6 ± 4 év volt (0,5-től 22 évig). Emellett 55 egészséges kontroll személytől (47 nő, 8 férfi) szintén vérmintát vettünk, akik klinikai dolgozók, vagy a betegekkel nem rokon látogatók közül kikerült egészséges önkéntesek voltak. Beleegyezési nyilatkozatot tett az összes RA-s beteg, és a helyi etikai bizottság hozzájárulását is megkaptuk a vizsgálatokhoz. A vizsgált két csoportból HLA-DRB1*01 szubtypusok meghatározását 27 RA-s beteg és 10 kontroll személy esetében tudtuk elvégezni, mivel ők adódtak DRB1*01 allélt hordozóknak. A DRB1*04 allél szubtypusainak meghatározása 26 DRB1*04 pozitív RA-s betegen, és 6 DRB1*04 pozitív kontroll személyen történt.

II. vizsgálat: Ebbe a tanulmányba 53 RA-s beteget (44 nő és 9 férfi, mind kaukázusi) vontunk be, akik közül mindenki megfelelt az ACR klasszifikációs kritériumainak. A betegek átlagéletkora 50 ± 15 év volt (17-82 év közöttiek). A betegség fennállásának ideje átlagosan 6 ± 4 év volt a vizsgálat idején (tartomány: 0,5-22). Beleegyezési nyilatkozatot tett az összes RA-s beteg, és a helyi etikai bizottság hozzájárulását is megkaptuk a vizsgálatokhoz.

SLE vizsgálatokba bevont betegek

A DEOEC III. sz. Belgyógyászati Klinika SLE-s betegeit gondozó munkacsoport (Tarr és mtsai) által vizsgált 3, SLE-ben szenvedő betegcsoportját vontuk bele a vizsgálatainkba. Összesen 362 SLE-vel kezelt betegük közül 110 esetben definitív APS diagnózis is felállítható volt mind a sapporoi, mind a Sydney-i kritériumok alapján. Közülük 26 esetben primer antifoszfolipid szindrómával indult a klinikai kórlefolyás, és csak évekkel később (átlagosan 5,5 év; tartomány: 1-29 év) volt igazolható SLE (PAPS+SLE csoport), míg 84 betegnél SLE-vel kezdődött a betegség, és szekunder módon szövődött APS. Ez utóbbi csoportból random módon kiválasztottak 26, az első csoporttal korban, nemben, betegség fennállási időben egyező beteget (SLE+SAPS csoport).

Az APS-ban nem szenvedő SLE-s betegekből hasonló módon kiválasztottak korban, nemben és betegség fennállási időben az előző csoportokhoz illesztett 26 beteget („tisztán” SLE) Esetükben definitív antifoszfolipid szindróma diagnózis nem volt felállítható a sapporoi kritériumok alapján, tehát kórtörténetükben sem az SLE diagnózisuk felállítása óta (legalább 5 év), sem korábban nem szerepelt trombótikus történés és antifoszfolipid antitest pozitivitás együttes jelenléte.

A fenti betegcsoportokból a HLA genotípusok meghatározását a PAPS+SLE csoportból 15 (15 nő, átlagéletkor az SLE diagnózisakor: 33; (15-58), APS dg-kor: 24,5 (10-58)), a SAPS+SLE csoportból 22 (20 nő, 2 férfi; átlagéletkor az SLE diagnózisakor: 33; (15-63), APS dg-kor: 41 (17-71)), a csak SLE-s csoportból pedig 26 (26 nő, átlagéletkor az SLE diagnózisakor: 23,5 (11-48)) személyen sikerült elvégezni.

Munkám során a már korábban említett, kissé kibővített (57 fő, 47 nő, 10 férfi átlagéletkor: 34 (27-63)) kontroll csoportunk HLA-DR és HLA-DQ vizsgálatának eredményét is felhasználtam.

A HLA-DR és HLA-DQ genotípus meghatározása

A CD diagnózissal kezelt betegek esetében a HLA-DQ, RA-s betegek esetében a HLA-DR, SLE-s betegeknél pedig mind a HLA-DR mind a HLA-DQ genotípusok meghatározását elvégeztem.

DNS izolálás és PCR reakciók:

A DNS izolálást EDTA-val alvadásgátolt vér buffy coat-jából végeztük QIA amp blood mini kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) felhasználásával a gyártó utasításai szerint.

A polimeráz láncreakció (PCR) alapú HLA-DR és HLA-DQ vizsgálatok szekvencia specifikus primerek segítségével (Olerup-SSP), alacsony felbontású kitek (HLA-DR Low resolution kit, HLA-DQ Low resolution kit, GenoVision, Oslo, Norway) felhasználásával történtek. Azokban az esetekben, ahol a pontos szubtípus ismeretére volt szükségünk, szubtipizálást végeztünk a megfelelő szubtipizáló kit alkalmazásával (HLA-DRB1*01, DRB1*04, DQB1*02, DQB1*03 szubtipizáló kitek, GenoVision, Oslo, Norway). Mindegyik vizsgálat a gyártó utasításai szerint történt, rekombináns Taq DNS polimeráz (Invitrogen, Sao Paulo, Brasil) alkalmazásával.

Agaróz gélelektroforézis:

A HLA genotípusokat 2%-os agaróz gélen végzett elektroforézis során kapott PCR mintázat alapján határoztuk meg. A SYBR green festékkel színezett DNS sávokat Alpha Imager MultiImage Light Cabinet (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA, USA) segítségével detektáltuk.

Egyéb vizsgálatok

EMA és anti-TG antitest meghatározások coeliákiás betegekben

A vizsgálatok a III. sz. Belgyógyászati Klinika Regionális Immunológiai Laboratóriumában rutin jelleggel történtek. Az EMA IgA és IgG alosztályok kimutatása szérumból indirekt immunfluoreszcens módszerrel történt humán köldökzsínórt használva szubsztrátként. A szérum kezdő hígítása 1: 10 volt foszfáttal pufferelt sóoldatban. Az EMA-t

majom nyelőcsővön is ellenőrizték 1:2,5 szérumszűrésben. Az anti-tTG antitest mérések E. coliban expresszált humán rekombináns antigén felhasználásával, ELISA módszerrel történtek.

Szövettani vizsgálat coeliakiás betegek esetében

A szövettani metszetek jól orientált részeiben a boholy magasság /kripta mélység arányát vizsgálta egy patológus, valamint meghatározta az intraepitheliális limfociták számát. A szövettani értékelésnél coeliakiával kompatibilisnek tekintettük azokat a mintákat, ahol a boholy/crypta arány <1 volt (parciális II, III, szubtotális és totális boholyatrophia). Csak a gluténfogyasztás mellett végzett szövettani vizsgálatok eredményeit vettük értékelhetőnek.

RA laboratóriumi markereinek vizsgálata

A szérum IgM RF meghatározás quantitativ nephelometriával történt (Cobas Mira Plus, Roche, Basel, Svájc), RF reagenseket használva (Dialab, Budapest, Magyarország). A RF szint > 50 U/ml értéknél számított magasnak. Az anti-CCP antitestet második generációs Immunoscan-RA CCP2 ELISA teszttel mutattuk ki a szérumokból (Euro Diagnostica, Arnhem, Hollandia). A vizsgálat a gyártó utasításai szerint történt. A 25 U/ml feletti koncentrációt vettük pozitívnak.

Statisztikai analízis

Rheumatoid arthritides betegek vizsgálata:

I. vizsgálat: Az RA-s betegekben a különböző HLA-DR allélok előfordulását az egészséges személyekben találtakhoz viszonyítottuk. A genotípusok Hardy-Weinberg egyensúlyát χ^2 goodness-of-fit teszt segítségével vizsgáltuk. Az allélgyakoriságok összehasonlítását χ^2 próba segítségével, Yates korreláció vagy Fischer féle egzakt teszt használatával végeztük, SPSS 10,0 szoftverrel (SPSS, Chicago, IL, USA). Két adatcsoport között akkor tekintettük szignifikánsnak a különbséget, ha a p érték 0,05-nél kisebb volt.

II. vizsgálat: A statisztikai analízist szintén SPSS10.0 szoftver segítségével végeztük. Két betegcsoport közötti különbség detektálásához χ^2 próbát használtunk. Mediánt és 0,25/0,75

quartilist alkalmaztunk, mikor szükséges volt. A klinikai adatok vizsgálatához Kolmogorov-Smirnov tesztet használtunk. Két adatcsoport között akkor tekintettük szignifikánsnak a különbséget, ha a p érték 0,05-nél kisebb volt.

Anti-foszfolipid szindrómával társuló és nem társuló SLE-s betegek vizsgálata:

A HLA-DR és HLA-DQ allélok gyakoriságának összehasonlítását a 4 vizsgált csoportban Fischer exact tesztel végeztük, SPSS 11.0.0. statisztikai szoftver felhasználásával. Bármely két adatcsoport között akkor tekintettük szignifikánsnak az eltérést, ha a p-érték kisebb volt, mint 0,05.

Eredmények

Coeliakia

A vizsgálat idején a 70 betegből mindössze 31 (44,3%) tartotta a szigorú gluténmentes diétát. Ezen betegek szérumában EMA és TG ellenes antitestet nem lehetett kimutatni, és a szérum total IgA szintjük is normális volt. A maradék 39 személyből 29 részben, 10 pedig egyáltalán nem tartotta a diétát. A 39 betegből 27 (69,2%) szérumában mind az EMA, mind a TG ellenes antitest detektálható volt, de egyiküknél sem jelentek meg klinikai tünetek. A kezdeti diagnózis felállításakor regisztrált klinikai tünetek nem különböztek az EMA/anti-TG pozitív és negatív betegek esetében.

Mind a 27 EMA pozitív páciens hordozta a DQ2 vagy DQ8 heterodimert, valamint 9 további beteg is, akik jelenleg ugyan EMA negatívak voltak, de a diagnózis felállítása után EMA eredményük valamikor pozitívnak adódott. (1. táblázat) Mivel a transzglutamináz-ellenes antitest vizsgálatot csak 2000 után vezették be a klinikai gyakorlatba, nem minden EMA + beteg rendelkezett TG ellenes antitest eredménnyel. Természetesen azok közül, akik rendelkeztek pozitív TG ellenes antitest eredménnyel, mindenki esetében detektálható volt az EMA is.

Az EMA vagy TG ellenes antitest pozitív lelettel nem rendelkező betegek 56%-a szintén hordozta a DQ2 vagy a DQ8 heterodimert. A betegek közül 15 sem a DQ2, sem a DQ8 allélt nem hordozta. Az egészséges kontroll csoport tagjainak 23%-ában fordult elő a DQ2 vagy a DQ8 allél, igazolva, hogy ezen allélok jelenléte önmagában nem bizonyítja a betegség fennállását (nincs a táblázatban jelölve).

1. táblázat. HLA-DQ2/DQ8 pozitivitás a felülvizsgálat idején endomysium-ellenes antitest (EMA) vagy szöveti-transzglutamináz ellenes antitest (antiTG) pozitivitást mutató illetve negatív lelettel rendelkező betegek esetében

	EMA vagy anti TG + n=36 (%)	EMA és antiTG- n=34 (%)	Összesen n=70 (%)
DQ2 vagy DQ8 +	36 (100)	19 (55,8)	55 (78,6)
DQ2 és DQ8 -	0	15 (44,2)	15 (21,4)

A 65 személytől származó összesen 79 szövettani minta, továbbá 15 minta nélküli részletes patológiai leírás állt rendelkezésünkre az újrávéleményezéshez. A minták jelentős része (kb. 30%) technikai problémák miatt (nem megfelelő orientáció vagy az anyag mechanikai károsodottsága) nem volt felhasználható. A HLA-DQ vizsgálatokkal egy időben így 32 új biopszia vizsgálat is elvégzésre került. Súlyos boholyatrophia, megnövekedett intraepitéliális limfocita szám és crypta hiperplasia a 36 EMA+ lelettel rendelkező, DQ2 vagy DQ8 pozitív betegből 35-nél (97%) fordult elő különböző mértékben, míg a 19 személyből, aki DQ2/DQ8 pozitív volt, de EMA státusza ismeretlen volt a diéta megkezdése előtt, csak 8-nál (42%). (Bár a szigorú diéta alatt végzett szövettani vizsgálat negatív eredménye nem használható a betegség kizárására.) A 15 DQ2 és DQ8 negatív páciens esetében csak enyhe szövettani eltéréseket tapasztaltunk, súlyos boholyatróphia nélkül. Az EMA pozitív eredménnyel nem rendelkezők közül senkinél nem volt a diagnózis eredetileg az ESPGHAN 1969-es kritériuma alapján glutén újratelheléssel megerősítve. A bizonytalan esetekben klinikai követéssel egybekötött szabad gluténfogyasztást javasoltunk 11 HLA-DQ2/DQ8 pozitív betegnek, akiknek még korábban sohasem volt EMA pozitív eredményük, valamint mind a 15 DQ2/DQ8 negatív betegnek is. Közülük 21-en beleegyeztek az ESPGHAN protokoll szerinti követéses biopsziákba. A DQ2 pozitív betegekből négyenél jelentek meg klinikai tünetek és EMA pozitivitás 6 hónapon belül, valamint közülük 3 betegnél lett kimutatható subtotális boholyatrophia a gluténtelhelés után végzett biopsziás mintában. Egy beteg megtagadta a relapsus utáni kontroll biopsziás vizsgálatot. Az összes többi beteg tünetmentes maradt, és egyikőjük esetében sem jelent meg EMA vagy TG ellenes antitest, illetve szövettani eltérés sem tapasztaltak 2 évvel a gluténtelhelés megkezdése után végzett biopszia eredményeiben. (5. ábra) Mind a 15 DQ2/DQ8 negatív páciens jól tolerálta a glutént a követéses terhelés 2,3-7 éve alatt, így a HLA-DQ tipizálás negatív prediktív értéke 100%.

Az összegyűjtött szövettani bizonyítékokat, melyek a coeliakia diagnózisa mellett illetve ellen szólnak, a HLA-DQ eredményekkel összevetve a 2. táblázat mutatja be. A régi és az új szövettani eredményeket összegezve az adatok azt mutatják, hogy a coeliakia diagnózisa a 70 betegből 39-nél megerősíthető, valamint további 9 személynél nagyon valószínűsíthető (összesen 68.6%), teljesen kizárható 14 betegnél, valamint igen valószínűtlen 8 személy esetében. A HLA-DQ2 illetve DQ8 jelenlétének szenzitivitása 100% coeliakiára nézve, míg specificitása csak 85%. Bár a kezdeti patológias vizsgálatok specificitása még kisebb (75%) volt.

2. táblázat. Szövettani bizonyítékok a coeliakia diagnóza mellett vagy a diagnózis ellen olyan betegekben, akiknél az eredeti diagnózis felállítása kizárólag szövettani vizsgálat alapján történt. Az eredmények a bizonytalan esetekben a kiterjesztett követésen és a glutént tartalmazó étrend mellett végzett új biopsziás eredményeken alapul.

Szövettan	EMA vagy anti-TG + HLA-DQ2 vagy DQ8 +	EMA és anti-TG- HLA-DQ2 vagy DQ8+	EMA és anti-TG- HLA-DQ2 és DQ8-
SVA	35	7	0
PVA	4	1	0
Enyhe eltérések	0	0	0
Normál	0	5	14
Diagnózissal nem egyező	1*	2*	1*
Összes	40	15	15
CD diagnózist alátámasztó	39 (97,5%)	8 (53,3%)	0 (0%)

*megtagadták a gluténterhelést, vagy az új biopsziát

Rövidítések: SVA=szubtotális boholyatrophia, PVA=partialis boholyatrophia, CD=coeliakia

Rheumatoid arthritis

I. vizsgálat:

Korábbi vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a HLA-DRB1*01 (HLA-DR1) és DRB1*04 (HLA-DR4) allélok nagyobb gyakorisággal fordultak elő a betegek között, mint a kontroll csoportban. Jelen munkám során elvégeztem a HLA-DRB1*01 allélok szubtypusainak meghatározását a DR1 pozitív betegek (n=27) és kontroll személyek (n=10) esetében. Az eredményeket a 3. táblázatban tüntettem fel. Az RA-s DR1 pozitív betegek 92,6%-a a expresszáta a DRB1*0101 allélt, 3,7%-a a DRB1*0102 allélt, és 3,7%-a a DRB1*0105 allélt. Ezen szubtypusok megoszlása a kontroll csoportban statisztikailag hasonlóan alakult (sorban 90%, 10% és 0%).

3. táblázat HLA-DR1 szubtypusok megoszlása a DR1 pozitív betegek és kontroll személyek között

HLA-DR1 szubtípus	RA-s betegek n(%) n=27	Kontrollok n(%) n=10	Szignifikancia
DRB1*0101	25 (92,6)	9 (90)	NS
DRB1*0102	1 (3,7)	1 (10)	NS
DRB1*0105	1 (3,7)	0 (0)	NS

Rövidítések: n=vizsgált személyek száma, S=szignifikáns, NS=nem szignifikáns

A HLA-DR4 pozitív betegek (n=26) és kontroll személyek (n=6) mintáit is szubtipizálásnak vetettük alá. A vizsgálat eredményeit a 4. táblázatban tüntettem fel. A HLA-DRB1*0401 allél fordult elő leggyakrabban mind az RA-s betegekben (61%), mind a kontroll személyekben (66%). Érdekes, hogy a kaukázusi RA-s betegekre oly jellemzőnek tartott DRB1*0404 allél hasonló gyakorisággal fordult elő a DR4 pozitív RA-s (19,2%) és a DR4 pozitív kontroll személyek (16,7%) között. Statisztikailag szignifikáns eltérés nem találtunk tehát a DR4 pozitív RA-s és a kontroll személyek között sem a DRB1*0401, sem a DRB1*0404 allél tekintetében.

4. táblázat. HLA-DR4 szubtypusok megoszlása a DR4 pozitív RA-s betegek és kontrollok között

HLA-DR4 szubtípusok	RA-s betegek n (%) n=26	Kontrollok n(%) n=6	Szignifikancia
DRB1*0401	16 (61,5)	4 (66,7)	NS
DRB1*0402	0 (0)	1 (16,7)	NS
DRB1*0404	5 (19,2)	1 (16,7)	NS
DRB1*0405	3 (11,5)	0 (0)	S (p<0,05)
DRB1*0406	1 (3,8)	0 (0)	NS
DRB1*0407	1 (3,8)	0 (0)	NS
DRB1*0408	2 (7,7)	0 (0)	S (p<0,05)

Rövidítések: n=vizsgált személyek száma, S=szignifikáns, NS= nem szignifikáns

Ezzel ellentétben kicsi, de szignifikáns eltérést találtunk az RA-s és a kontroll csoport között DRB1*0405 (11,5% vs. 0%) és DRB1*0408 (7,7% vs. 0%) allélok tekintetében ($p < 0,05$). Az egyéb allélokat: DRB1*0402, DRB1*0406, DRB1*0407 csak 1-1 betegben detektáltuk.

II. vizsgálat:

A munkám során vizsgált 53 RA-s beteg szérum mintájából 39 (73,6%) volt RF pozitív míg anti-CCP antitest 33 (62,2%) mintában volt kimutatható. Az 53 betegből 17 (32,1%) hordozta a HLA-DRB1*04 allélt egy vagy két példányban.

Szoros kapcsolatot találtunk az anti-CCP antitest és a RF pozitivitás között. Az 53 betegből 30 (56,6%) bizonyult egyszerre RF és anti-CCP pozitívnak, míg 9 (17%) beteg mindkét markerre nézve negatívnak mutatkozott ($\chi^2=6,717$, $p < 0,01$). Ráadásul szignifikáns összefüggést kaptunk az anti-CCP antitest pozitivitás és a HLA-DRB1*04 allél jelenléte között ($\chi^2=5,829$, $p < 0,01$). Ezzel ellentétben semmilyen összefüggést nem találtunk a RF pozitivitás és a HLA-DRB1*04 allél jelenléte között (táblázatban nem szerepel). Tovább vizsgálva a laboratóriumi markereket a betegeket két csoportra osztottuk: egyik csoportba azok a betegek tartoztak, akik egy vagy két példányban hordozták a SE alléleket (SE-pozitív betegek), a másikba pedig azok, akik nem (SE negatív betegek). Összesen 16 beteg volt DRB1*01 pozitív, 17 DRB1*04 pozitív, és 23-an nem hordozták egyik allélt sem (5. táblázat). Azokat a betegeket, akik egyik kérdéses allélt sem expresszáltak, „X,X” genotípussal jelöltem. Nem találtunk semmilyen különbséget a szérum RF szint tekintetében az SE-pozitív és SE-negatív betegek között (5. táblázat). Ezzel ellentétben anti-CCP antitest vonatkozásában az egy vagy két DRB1*04 allélt hordozó betegeknél emelkedettebb értékeket találtunk (DRB1*01/*04: $530,5 \pm 174,2$ U/ml; *04/*04: $439,5 \pm 182,8$ U/ml; *04/*X: $591,0 \pm 164,2$ U/ml; az összes DRB1*04 pozitívnak: $530,0 \pm 182,6$ U/ml), mint a HLA-DRB1*04 negatív betegekben (DRB1*01/*X: $12,0 \pm 8,6$ U/ml; *X/*X: $6,8 \pm 56,2$ U/ml; összes DRB1*04 negatívnál: $56,8 \pm 27,4$ U/ml). Ezeket az eredményeket a 5. táblázatban és a 3. ábrán tüntettem fel. A DRB1*04 allélt hordozók körében számos betegnél találkoztunk a cut-off értéket magasan meghaladó, 1000-2000 U/ml közötti, vagy ennél is magasabb anti-CCP antitest értékkel. A shared epitópot nem hordozók körében ez ritkábban fordult elő. Ha csak az anti-CCP antitest pozitív betegek szérum anti-CCP értékeit hasonlítjuk össze, akkor is találunk eltérést, bár ez az eltérés kevésbé markáns: a HLA-DRB1*04 allélt hordozók anti-CCP antitest szintje mintegy duplája a HLA-DRB1*04 allélt nem hordozókénak.

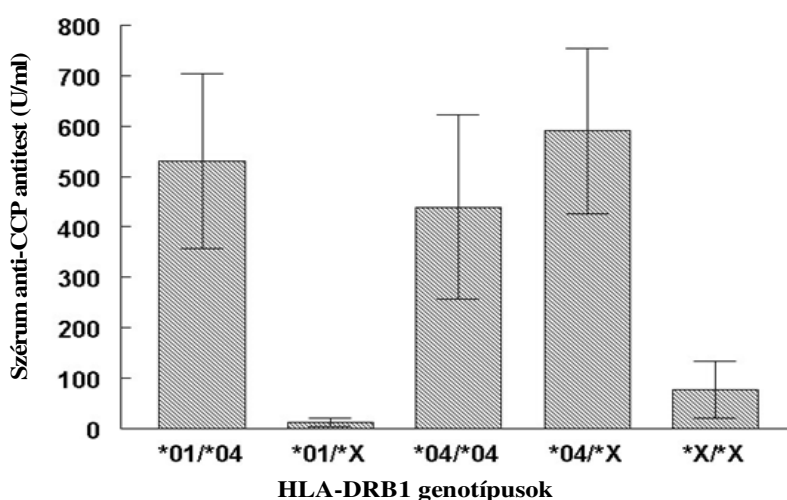
Nem találtam különbséget szérumszintű anti-CCP antitest koncentráció tekintetében a DRB1*01 allélt hordozó, de DRB1*04 allélt nem hordozó betegek és a shared epitóp allélt egyáltalán nem expresszáló betegek között (5. táblázat, 3. ábra).

5. táblázat A szérumszintű anti-CCP és RF koncentrációjának összefüggése a “shared epitópok” jelenlétével RA-s betegek esetében

	DRB1*01 /04 (n=3)	DRB1*01/X (n=13)	DRB1*04 /04 (n=3)	DRB1*04 /X (n=11)	DRB1*X/ X (n=23)	Az összes DRB1*04 pozitív (n=17)	Az összes DRB1*04 negatív (n=36)	P^{1*}
Anti-CCP (U/ml)	530.5± 174.2	12.0 ± 8.6	439.5± 182.8	591.0± 164.2	76.8 ± 56.2	530.0± 182.6	56.8± 27.4	< 0.01
RF (U/ml)	16.5 ± 6.2	29.5 ± 9.8	85.5 ± 34.6	70.0 ± 46.2	71.0 ± 38.4	63.5 ± 28.4	57.5± 22.6	NS

A p érték az összes DRB1*04 pozitív és összes DRB1*04 negatív beteg értékei közötti különbséget jelzi. NS = nem szignifikáns

3. ábra. Szérumszintű anti-CCP antitest koncentrációk a különböző HLA-DR1 és HLA-DR4 genotípusokkal összefüggésben.



Más HLA-DRB1 genotípusokat (HLA-DRB1*03,*07,*08,*11,*13,*14,*15 és *16) is vizsgálva azt tapasztaltam, hogy a DRB1*13 és DRB1*15 allélt hordozók többsége anti-CCP

antitest pozitív, mitöbb, a fent említett DRB1*04 allélt hordozó betegek mellett az ezen allélokat hordozó betegek szérum anti-CCP antitest szintje is magasabb, mint a többi HLA-DR genotípusba tartozóknak ($p < 0,01$).

Antifoszfolipid szindrómával társuló és nem társuló SLE

Az APS-sel nem társuló SLE-ben szenvedő betegekben - az irodalmi adatokhoz hasonlóan- a DRB1*03 allél, és a sokszor vele kapcsolatosan öröklődő DQB1*0201 allél gyakrabban fordult elő, mint az egészséges kontroll személyekben (46% vs. 26%, $p = 0,08$ nem szignifikáns), viszont ezen allélok előfordulása a PAPS+SLE csoportban igen ritkának adódott (13% vs. 46% a tisztán SLE-s csoporthoz viszonyítva, $p = 0,04$). Az SLE-s csoporthoz hasonlóan előfordulásuk az SLE+SAPS csoportban is valamelyest gyakoribbnak bizonyult a kontroll és a PAPS+SLE csoporthoz képest (32% vs. 26% és 13%). Az SLE-re szintén jellemző, és egy másik magyar kutatócsoport SLE-s betegcsoportjában gyakran talált DRB1*15 allél tekintetében mi nem találtunk jelentős különbséget az APS-sel társuló (PAPS+SLE, SLE+SAPS) és nem társuló „tisztán” SLE-s csoport, valamint az egészséges kontroll csoport között (27%, 27%, 26% és 16% sorban). Az APS-re jellemző DRB1*04 allél gyakrabban fordul elő a két APS-sel társuló SLE-s csoportban, mint a „tisztán” SLE-s, vagy a kontroll személyekben, de ez a különbség nem szignifikáns (27% és 23% vs. 15% és 18%). Az APS-re szintén jellemző DRB1*07 allél tekintetében nem találtunk jelentős eltérést a négy csoport között.

Az irodalmi adatoktól eltérően a PAPS+SLE csoportban igen gyakran mutatkozott a DRB1*13 allél a másik három csoporthoz képest (33% vs. 7%, 13%, és 16% a „tisztán” SLE-s, az SLE+SAPS és a kontroll csoportokkal szemben, az eltérés nem szignifikáns).

A HLA-DQB1 allélok közül a DQB1*0301 allél néhány irodalmi eredménynek ellentmondóan az általunk vizsgált PAPS+SLE betegcsoportban igen ritkán fordult elő a „tisztán” SLE-s, az SLE+SAPS és a kontroll csoporthoz képest: 13% -ban szemben a többi csoportban tapasztalt 27%, 27% és 44%-os előfordulási arányával. A DQB1*0302 és DQB1*06 allél viszont gyakrabban jelent meg a PAPS+SLE csoportban. A DQB1*0302 allél a PAPS+SLE-s betegek 27%-ában volt megtalálható, míg a „tisztán” SLE-s betegek 7%-ában, az SLE+ SAPS-s betegek 18%-ában és a kontroll személyek 14%-ában. A DQB1*06 allél pedig a PAPS+SLE-s betegek 47%-ában volt jelen szemben a többi csoport 23%, 36% és 26%-os pozitivitásával („tisztán” SLE, SLE+SAPS és kontroll csoportokban). A többi allél tekintetében nem találtunk említésre méltó eltérést a négy vizsgált csoport között.

Megbeszélés

Coeliakia

A coeliákia diagnózisa ma a súlyos boholyatrophia és coeliákia specifikus autoantitestek (tTG, EMA) kimutatásán alapul. A mi munkánk is alátámasztja ezen eljárásnak a megbízhatóságát azokban az esetekben, melyekben a betegnél mindkét kritérium teljesül, mivel ezek a betegek mind hordozzák a betegség létrejöttéhez szükséges megfelelő HLA-DQ alléleket is. Mitöbb, a villusatrófia és a szeropozitivitás kombinációjának akkor is hasonlóan nagy jelentősége van, ha nem egy időben regisztrálják őket, vagy ha a kezdeti diagnózis után, később sikerül kimutatni. Egyik betegünk sem rendelkezett EMA eredménnyel a kezdeti diagnózis felállításakor, de diétahibák miatt a betegek 50%-ában sikerült később EMA pozitivitást detektálni. A tTG ellenes antitest kimutatására irányuló vizsgálat az EMA meghatározással azonos eredményt adott.

Azokban az esetekben, melyekben nincs dokumentált EMA (vagy tTG) pozitivitás, a coeliákia diagnózisa kevésbé biztos. A szövettani eltérések nem specifikusak a betegségre, valamint a patológiai kiértékelésnek számos buktatója is lehet, mint például a minta rossz minősége vagy rossz orientációja. Munkánk során nagy gyakorisággal találtunk félrevezető mikroszkópos eredményeket, melyeket így az orvosok később tévesen a villusatrófia bizonyítékeként interpretáltak. Ezeket a nehézségeket már 1969-ben is felismerték, mikor az ESPGAN megfogalmazta a coeliakia diagnózisának alapelveit, amit azóta interlakeni kritériumok néven ismerünk. Az interlakeni kritériumrendszer a betegség glutén-dependenciáján alapul, és legalább három biopsziát ír elő, mely azt mutatja, hogy a szövettani eltérések megszűnnek a gluténmentes diéta hatására, majd visszatérnek-e, ha a beteg elkezd újra glutént fogyasztani. Bár ezek a kritériumok ma már elavultnak tűnnek, egy új és kontrolált gluténterhelésnek igen nagy klinikai jelentősége lehet a kérdéses esetekben. Mi a munkánk során egy olyan betegcsoporttal dolgoztunk, akik a vizsgálatunk idején EMA negatívak voltak, diéta előtti EMA státuszuk ismeretlen, és akik esetében a HLA-DQ2-DQ8 alléleknek alacsony a prevalenciája.

Különösen nagy kihívást jelent azon fiatal felnőttek csoportja, akiknél a coeliakiát még gyerekkorukban, az EMA és tTG ellenes antitest vizsgálatok bevezetése előtt diagnosztizálták, és azóta gluténmentes diétát folytattak. Az ő diagnózisuk nem a jelenleg elfogadott diagnosztikai standardon alapul, a kezdeti klinikai tüneteik aspecifikusak is lehettek, mivel

néhány, korai gyerekkorból származó szövettani eltérést más is okozhat, például tehéntejfehérje enteropátia, vagy vírusinfekció okozta átmeneti károsodás. Ilyen körülmények között a HLA-DQ tipizálás lehet a legértékesebb vizsgálat a coeliakia kizárására. Mi a HLA-DQ2/DQ8 negatív betegek közül senkinél nem tapasztaltunk klinikai relapszust, és egyik esetben sem jelent meg coeliákia specifikus autoantitest a hosszan tartó gluténexpozíció hatására.

Általában a HLA-DQ2/DQ8 negatív eredmény a coeliákia lehetőségének kizárására használható. A DQ2 és DQ8 allélok jelenléte igen gyakori az egészséges populációban is, így ezen allélok jelenléte nem jelenti feltétlenül a betegség fennállását is. Volt néhány olyan DQ2/DQ8 pozitív betegünk is, akiknek nem volt EMA/tTG pozitív eredménye, meggyőző szövettani lelete sem, és jól tolerálta a glutént a hosszú követési idő alatt. Ez azt mutatja, hogy a kezdeti EMA negatív státusznak nagy negatív prediktív értéke van még villousatrófia fennállása esetén is. Bár a mi betegeinknek a kezdeti EMA státusza nem volt ismert, EMA negatívak maradtak és villusatrófia jeleit sem mutatta ki a biopszia 2 évnél hosszabb gluténterhelés után sem. Rájuk nagy valószínűséggel kimondhatjuk, hogy nem coeliákiások.

Korábbi tudományos eredményekhez hasonlóan úgy találtuk, hogy minden EMA pozitív beteg hordozta a DQ2 vagy DQ8 molekulát- ezt az eredményt egy másik coeliákiás betegcsoporton is megerősítettük- így elmondható, hogy EMA pozitív betegek esetében a HLA-DQ tipizálás nem szükséges.

Összefoglalva, az eredményeink alátámasztják a HLA-DQ tipizálás klinikai hasznát olyan esetekben, amikor a coeliákia diagnózisa bizonytalan.

Rheumatoid arthritis

Az RA és bizonyos HLA-DR allélek kapcsolatát már számos etnikai csoportban kimutatták. A HLA-DRB1 génnek (SE) a betegség súlyosságával és kimenetelével is összefüggésbe hozhatók. Az RA-ra való hajlam valószínűleg az úgynevezett „shared” epitóppal hozható összefüggésbe. Ezek a specifikus szekvenciák bizonyos DR1 (DRB1*0101), és DR4 (DRB1*0401, DRB1*0404, DRB1*0405, DRB1*0408, DRB1*0410) szubtypusokban, valamint a DRB1*1001 és DRB1*1402 allélokban fordulnak elő. Kaukázusi betegekben a HLA-DRB1*0101 és DRB1*0401 valamint DRB1*0404 és DRB1*0408 allélek hozhatók leginkább összefüggésbe a betegségre való hajlammal és a betegség súlyosságával. A közelmúltban megjelent egyetlen magyar tanulmány a DRB1*0404 allélt hozta leginkább összefüggésbe az RA-val. Mi munkánk során a HLA-DR1 (DRB1*01) szubtypusokat tekintve

azt találtuk, hogy a DRB1*0101, DRB1*0102 és a DRB1*0105 allélek expresszázódtak leggyakrabban RA-s betegekben, valamint a kontroll populációban is. Mindhárom allél egyformán gyakori volt a betegek és az egészséges populáció körében is. Ráadásul mivel eredményeink csak enyhe emelkedést mutattak a DR1 allélek gyakoriságában a kontroll csoportban találtakhoz képest, adataink arra engednek következtetni, hogy az általunk vizsgált betegek esetében a HLA-DR1 és szubtípusai nem játszanak nagy szerepet az RA kialakulásában, szemben más Kaukázusi populációkban tapasztaltakkal.

A DR4 szubtípusok közül a DRB1*0401 és DRB1*0404 allélek fordultak elő leggyakrabban mind az RA-s betegek, mind az egészséges kontroll személyek között. Nem találtunk viszont különbséget egyik szubtípus tekintetében sem a vizsgált két populációt összehasonlítva. Más kaukázusi populációkban is a DRB1*0401 és DRB1*0404 allélokat hozták összefüggésbe a betegségre való fogékonysággal. Az ázsiai betegek jellemző DRB1*0405 és a finn betegekénél gyakori DRB1*0408 allélek bár kevésbé voltak összességében gyakoriak, de szignifikánsan nagyobb gyakorisággal fordultak elő az RA-s betegekben, mint a kontroll személyekben. Ezek szerint eredményeink támogatják a DRB1*0405 és DRB1*0408 allélek RA pathogenezisében betöltött szerepét az általunk vizsgált RA-s betegek tekintetében. Ráadásul, a HLA-DR4 szubtípusok tekintetében a mi magyar szubpopulációnk a Finnországban és Ázsiában tapasztalt genetikai mintázatot is tükrözi.

Második munkánkban megvizsgáltuk a „shared epitópok” expressziója és a RF, anti-CCP antitestek jelenléte valamint szérumkoncentrációja közötti lehetséges összefüggéseket. Megerősítettük azon eredményeket, melyek szerint kapcsolat lehet az anti-CCP antitest és a RF pozitivitás között. Nem találtunk korrelációt a RF termelődése és a SE pozitivitás között. Nem szabad azonban elfeledkezni arról, hogy a szérum RF szintek változhatnak a kezelés alatt, tehát a megnövekedett RF termelődés és a HLA-DRB1 genotípusok közötti kapcsolatot az antireumatikus gyógyszeres kezelés is befolyásolhatja.

Összefüggést találtunk azonban az általunk vizsgált RA-s betegcsoportban az anti-CCP antitest pozitivitása és a HLA-DRB1*04 allélek expressziója között. Ezen az összefüggésen túl, melyet már más kutatócsoportok is leírtak korábban munkánk során azt találtuk, hogy nem csak az anti-CCP antitest megjelenése, hanem annak szérum szintje is szignifikáns kapcsolatban áll a HLA-DRB1*04 allél egy vagy két kópiájának hordozásával. Bár a RF továbbra is az RA diagnosztikájának fontos markere marad, azonban a nagy specificitású anti-CCP antitest szintje és a HLA-DRB1*04 allélok között talált asszociáció

egy igen értékes betegség marker kombinációt nyújthatna számunkra a betegség progressziójának megítéléséhez.

Mikor azt vizsgáltuk, hogy a szérum anti-CCP antitest szintje más, nem a „shared epitópok” közé tartozó HLA- DRB1 allélokkal kapcsolatba hozható-e, azt találtuk, hogy a DRB1*13 valamint a DRB1*15 allélt hordozók többsége anti-CCP antitest pozitív. Ráadásul a DRB1*13 vagy DRB1*15 allélt hordozók anti-CCP antitest szintje szignifikánsan magasabb volt, mint a HLA-DRB1*03,*07,*08,*11,*14 vagy *16 allélt expresszálóké. Ez az eredmény igen érdekes, mivel korábban a HLA-DRB1*13 és HLA-DRB1*15 allélokat még nem hozták összefüggésbe az RA-val.

Összefoglalva, munkánk megerősíti más kutatók azon eredményeit, amelyek szerint az anti-CCP antitestek és a HLA-DRB1*04 allélek szimultán lehetnek jelen RA-s betegekben. Új eredményként rávilágítottunk arra, hogy nem csak az anti-CCP pozitivitás, hanem az anti-CCP antitestek szintje is összefüggésbe hozható a SE-okkal RA-s betegekben. A HLA-DRB1 allélek és az autoantitest termelés közötti szoros kapcsolat befolyásolhatja a betegség későbbi továbbfejlődését és kimenetelét.

Antifoszfolipid szindrómával társuló és nem társuló SLE

Az SLE és az APS is olyan több szervet érintő autoimmun betegség, melyekre bizonyos autoantitestek jelenléte jellemző. Ezek az autoantitestek gyakran hozhatók kapcsolatba különböző szervi manifesztációkkal, például az anti-C1q és a ds DNS elleni antitestek a lupus nefritisszel, vagy az anti-SS-A a fényérzékenységgel, vagy az újszülöttkori lupussal. Az aPL antitestek mind az APS, mind az SLE klasszifikációs kritériumai között szerepelnek. Jelenlétük összefüggésbe hozható trombotikus események és ismétlődő vetélések gyakori előfordulásával is.

Mindkét kórkép genetikailag fogékony személyekben jelenik meg. Ezt a fogékonyságot MHC és nem MHC allélek határozzák meg. Az MHC allélok meghatározhatják bizonyos betegségek autoantitest profilját, és ezáltal a betegségek klinikai képét, megjelenését.

A klinikánk SLE munkacsoportja sok tekintetben eltérő klinikai jellemzőket talált a később általam is vizsgált három SLE-s betegcsoportban: a tisztán SLE-s, valamint a primer APS-es és a szekunder APS-sel szövődött SLE-s csoportokban. Nem meglepő, hogy a primer és szekunder APS-ben szenvedő betegeknél nagyobb számban fordulnak elő trombotikus események, mint például a mélyvénás trombózis, tüdőembólia vagy stroke. Az APS-sel nem

szövődött, tisztán lupusos betegek körében szignifikánsan gyakoribb volt az ISN/RPS III-IV típusú glomerulonefritisz gyakorisága. Hasonlóan ebben a csoportban gyakoribb volt az aktív periódusok száma, magasabb adagú szteroidot kaptak és a PAPS+SLE-s csoporthoz képest szignifikánsan gyakoribb volt a ciklofoszfamid alkalmazása is. Szignifikáns különbséget találtak a primer és szekunder APS-es betegek között szülészeti szövődmények tekintetében. A PAPS-ban szenvedő betegcsoportban több nőnél fordult elő vetélés.

A három SLE-s betegcsoport klinikai jellemzőiben megfigyelt szignifikáns eltérések felvetették a kérdést, hogy ezen eltérő fenotípusok magyarázhatók-e eltérő MHC II profillal, továbbá hogy az APS - ha csak néhány esetben is - jelentkezhethet-e pusztán a lupus manifesztációjaként, vagy pedig független autoimmun betegséggént társul az SLE-hez. Hogy megválaszoljuk a fenti kérdéseket, elvégeztem a három betegcsoportba tartozó betegek HLA-DR és HLA-DQ genotípusának meghatározását, különös tekintettel azokra az allélokra, melyek irodalmi adatok szerint összefüggésbe hozhatók a betegségekkel. A legérdekesebb betegcsoportra, a PAPS+SLE csoportra fókuszálva azt találtuk, hogy a DRB1*03 és DQB1*0201 allélok előfordulása (mindkettő jellemző a lupusra) szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kontroll és az APS nélküli, tisztán SLE-s csoportban, valamint a SAPS-el szövődött lupusos betegekkel összehasonlítva is ritkábbnak találtuk. Az APS-re jellemző HLA-DRB1*04, DRB1*13, DQB1*0302 és DQB1*06 allélek gyakrabban fordultak elő a PAPS-es lupusos betegekben, mint a másik három vizsgált csoportban, bár ezek a különbségek nem voltak szignifikánsak, ami valószínűleg az egyes alcsoportokba tartozó betegek alacsony számának is tulajdonítható.

Ezek alapján elmondhatjuk, hogy mivel a PAPS-ben és SAPS-ben szenvedő betegek esetében alapvetően különböző gyakorisággal fordultak elő a kérdéses HLA-DR és HLA-DQ allélok, így valószínűleg ezek nem tehetők felelőssé a részben hasonló klinikai kép (pl. trombotikus események) kialakításáért. Az eltérő genotípusok viszont részben felelősek lehetnek a különböző klinikai manifesztációk jelentkezéséért (pl. szülészeti szövődmények száma). Mivel a DRB1 és DQB1 allélok eltérő gyakorisággal expresszálódnak a tisztán SLE-s és a PAPS-es lupusos betegekben, arra következtethetünk, hogy ez utóbbi csoportban az APS független betegséggént kapcsolódik az SLE-hez. Egyes MHC II allélok (pl. DRB1*15 és DRB1*07) tekintetében mi nem találtunk említésre méltó eltérést a négy vizsgált csoport között, szemben néhány irodalmi adattal. Ez valószínűleg etnikai különbségeknek, vagy az eltérő antifoszfolipid antitest profiloknak köszönhető.

Megállapítások, új eredmények, összefoglalás

A coeliakiával kapcsolatos vizsgálataink megerősítették azokat az eredményeket, melyek szerint a betegek többsége hordozza vagy a HLA-DQ2 vagy a -DQ8 allélt, mivel EMA pozitivitás esetünkben is csak az ezen allélokat hordozó pácienseknél fordult elő. A csak szövettani vizsgálat alapján coeliákiásnak tartott betegek 35%-ának nem volt sem HLA-DQ2 sem HLA-DQ8 allélja, náluk gluténterhelés hatására sem jelent meg szeropozitivitás, és nem történt klinikai relapszus sem. Ezáltal rávilágítottunk arra, hogy a coeliakia diagnózisának „gold standardjaként” számon tartott szövettani vizsgálatnak sok a buktatója, így a csak szövettani vizsgálat alapján felállított coeliakia diagnózis sokszor nem helytálló. Ilyen esetekben a HLA-DQ genotípus meghatározása igen fontos szerepet játszik a DQ2-DQ8 negatív betegek megtalálásában, akiknél a diagnózis revíziója indokolt gluténfogyasztás mellett. EMA pozitivitás és a szövettani vizsgálatkal igazolt egyértelmű boholýathrophia esetén azonban a HLA-DQ meghatározás nem szolgál extra információval.

Korábban a DEOEC Reumatológiai Tanszékén kezelt RA-s betegek HLA-DRB1 genotípusát vizsgálva azt találtuk, hogy a HLA-DRB1*04 allélek szignifikánsan gyakrabban fordulnak elő a betegekben, valamint a HLA-DRB1*01 allélok előfordulása is gyakoribb a kontroll személyekhez viszonyítva, hasonlóan más kaukázusi népcsoportokhoz. Jelen munkám során a HLA-DR1 szubtypusokat vizsgálva azt tapasztaltam, hogy a DRB1*01 allélek közül a DRB1*0101, DRB1*0102 és DRB1*0105 allélek fordultak elő legnagyobb számban, de gyakoriságuk a beteg és a kontroll populációban hasonló volt, azt valószínűsítve, hogy a HLA-DR1 és szubtypusai nem játszanak nagy szerepet a betegség pathogenesisében az általunk vizsgált RA-s betegek esetében. A HLA-DR4 szubtypusok tekintetében a leggyakoribb allélként számon tartott HLA-DRB1*0401 és DRB1*0404 allélok frekvenciájában nem találtunk szignifikáns különbséget a beteg és a kontroll csoport között. Ezzel ellentétben az főként ázsiai RA-s betegek jellemző DRB1*0405, és a finn RA-s betegpopulációkra jellemző DRB1*0408 allélek előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt ezen allélek az RA pathogenesisében betöltött szerepét alátámasztva, hasonlóan a Finnországban és Ázsiában talált genetikai mintázatokhoz.

A szintén RA-s betegeket vizsgáló második munkámban megerősítettük azon eredményeket, melyek szerint kapcsolat lehet az anti-CCP antitest és a RF pozitivitás között. Új eredményként rávilágítottunk arra, hogy nem csak az anti-CCP pozitivitás, hanem az anti-CCP antitestek szintje is összefüggésbe hozható a „shared epitópokkal” RA-s betegekben. A

HLA-DRB1 allélek és az autoantitest termelés közötti szoros kapcsolat befolyásolhatja a betegség későbbi továbbfejlődését és kimenetelét. Rávilágítottunk arra, hogy az anti-CCP antitest termelése más HLA-DRB1 allélekkel, név szerint a HLA-DRB1*13 és HLA-DRB1*15 allélekkel is kapcsolatban lehet.

Az APS-val társuló és nem társuló SLE-s betegek klinikai adatainak összevetésekor intézetünk SLE munkacsoportja eltéréseket talált a három betegcsoport fenotípusában: a PAPS vagy SAPS-s betegekben gyakoriak voltak a thromboticus események és kisebb volt a gyulladásos aktivitás, mint a csak lupusos betegekben, valamint vetélés leggyakrabban a primer APS-ként induló esetekben fordult elő. Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy ezen eltérések hátterében állhatnak-e genetikai különbségek. Vizsgálataink alapján elmondhatjuk, hogy az SLE-re jellemző DRB1*03/DQB1*02 allélek az általunk vizsgált SLE-s betegekben is gyakoriak voltak, valamint SAPS-el szövődött betegekben is. Azokban az esetekben, ahol a betegség PAPS-el kezdődött, és ehhez társul később az SLE, teljesen eltérő allélek fordultak elő nagy gyakorisággal. Amikor a betegség SLE-vel kezdődött, és ehhez társult az APS, a betegek az SLE-re jellemző allélokat hordozták nagy számban, míg ha az APS jelentkezett először, és utána az SLE, akkor a betegek HLA-DRB1 és DQB1 genotípusa inkább az APS-re jellemző allélokat tartalmazza. Elmondhatjuk, hogy a PAPS és SAPS HLA-DRB1 és DQB1 profilja igen eltérő, így csekély szerepet játszhat a két betegség részben hasonló fenotípusának kialakításában.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kapitány A.**, Korponay-Szabó I., Tóth L., Tumpek J., Csípő I., Niina W., Jukka P., Szegedi Gy., Sipka S.: HLA-DQ allélek diagnosztikus jelentősége szuboptimális módon felállított coeliakia diagnózis esetén

Gyermekgyógyászat 55(4) 443-447. 2004

IF:0

2. **Kapitány A.**, Tóth L., Tumpek J., Csípő I., Sipos E., Wooley N., Partanen J., Szegedi Gy., Oláh É., Sipka S., Korponay-Szabó IR: Diagnostic significance of HLA-DQ typing in patients with previous coeliac disease diagnosis based on histology alone

Alimentary Pharmacology and Therapeutics Nov. 2006. Vol. 24. Issue 9. Page 1395-1402.

IF:3,287

3 **Kapitány A.**, Szabó Z., Lakos G., Aleksza M., Végvári A., Soós L., Karányi Z., Sipka S., Szegedi G., Szekanecz Z.: Associations between serum anti-CCP antibody, rheumatoid factor levels and HLA-DR4 expression in Hungarian patients with rheumatoid arthritis.

Isr Med Assoc J. 2008 Jan;10(1):32-6.

IF: 0,51

4. **Kapitány A.**, Tarr T., Szodoray P., Gyetvai Á., Poór Gy., Szegedi Gy., Sipka S., Kiss E. Human Leukocyte Antigen-DRB1 and -DQB1 genotyping in lupus patients with and without antiphospholipid syndrome

Ann N Y Acad Sci 2009 Sep;1173:545-51.

IF:1,73

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: 5,527

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények:

5. **Kapitany A**, Zilahi E, Szanto S, Szucs G, Szabo Z, Vegvari A, Rass P, Sipka S, Szegedi Gy, Szekanecz Z.: Association of Rheumatoid Arthritis with HLA-DR1 and HLA-DR4 in Hungary.

Ann N Y Acad Sci; 2005 jun 1051:263-70.

IF:1,93

6. Korponay-Szabó IR, Szabados K, Pusztai J, Uhrin K, Ludmány E, Nemes E, Kaukinen K, **Kapitány A**, Koskinen L, Sipka S, Imre A, Mäki M.: Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study.

BMJ. 2007 Dec 15;335(7632):1244-7.

IF: 9,245

7. Dezsofi A, Szebeni B, Hermann Cs, **Kapitany A**, Veres G, Sipka S, Körner A, Madácsy L, Korponay-Szabó IR, Rajczy K, Arató A: Frequencies of genetic polymorphisms of TLR4 and CD14 and of HLA-DQ genotypes in children with celiac disease, type 1 diabetes mellitus, or both J Pediatr Gastroenterol Nutr 2008 Sep;47(3):283-7.

IF: 2,067

Egyéb közlemények:

8. Zsilak S, Gal J, Hodinka L, Rajczy K, Balog A, Sipka S, Barath S, **Kapitany A**, Zilahi E, Szekanecz Z: HLA-DR genotypes in familial rheumatoid arthritis: increased frequency of protective and neutral alleles in a multicase family

J Rheumatol. 2005 Dec;32(12):2299-302.

IF:2,217

9. Szanto A, Szodoray P, Kiss E, **Kapitany A**, Szegedi Gy, Zehner M

Clinical, serologic, and genetic profiles of patients with associated Sjögren's syndrome and systemic lupus erythematosus

Hum Immunol. 2006 Nov;67(11):924-30.

IF: 2,66

10. Szücs G, Szekanecz Z, Zilahi E, **Kapitány A**, Baráth S, Szamosi S, Végvári A, Szabó Z, Szántó S, Czirják L, György Kiss C.: Systemic sclerosis-rheumatoid arthritis overlap syndrome: a unique combination of features suggests a distinct genetic, serological and clinical entity.

Rheumatology (Oxford). 2007 Jun;46(6):989-93.

IF: 4,052

11. Soós L, Szekanecz Z, Szabó Z, Fekete A, Zeher M, Horváth IF, Dankó K, **Kapitány A**, Végvári A, Sipka S, Szegedi G, Lakos G.: Clinical evaluation of anti-mutated citrullinated vimentin by ELISA in rheumatoid arthritis.

J Rheumatol. 2007 Aug;34(8):1658-63.

IF: 2,94

12. Szekanecz Z, Soós L, Szabó Z, Fekete A, **Kapitány A**, Végvári A, Sipka S, Szücs G, Szántó S, Lakos G.: Anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: as good as it gets?

Clin Rev Allergy Immunol. 2008 Feb;34(1):26-31.

IF: 1,677

13. Papp M, Foldi I, Nemes E, Udvardy M, Harsfalvi J, Altorjay I, Mate I, Dinya T, Varvolgyi C, Barta Z, Veres G, Lakatos PL, Tumpek J, Toth L, Szathmari E, **Kapitány A**, Gyetvai A, Korponay-Szabo IR.: Haptoglobin polymorphism: a novel genetic risk factor for celiac disease development and its clinical manifestations.

Clin Chem. 2008 Apr;54(4):697-704.

IF: 5,454

14. Nemes É, Lefler É, Szegedi L, **Kapitány A**, B. Kovács J., Balogh M, Szabados K, Tumpek J, Sipka S, Korponay-Szabó IR.: Gluten intake interferencies with the humoral immune response to recombinant hepatitis B vaccine in patients with celiac disease

Pediatrics 2008 Jun;121(6):e1570-6.

IF:5,012

15. Lakos G., Soós L, Fekete A, Szabó Z, Zeher M, Horváth IF, Dankó K, **Kapitány A**, Gyetvai A, Szegedi G, Szekanecz Z: Anti-cyclic citrullinated peptide antibody isotypes in rheumatoid arthritis: association with disease duration, rheumatoid factor production and the presence of shared epitope

Clin Exp Rheumatol 2008 Jun;26:253-260.

IF:2,189

16. Szodoray P, Szabó Z, **Kapitány A**, Gyetvai Á, Lakos G, Szántó S, Szűcs G, Szekanecz Z: Anti-citrullinated protein/peptide autoantibodies in association with genetic and environmental factors as indicators of disease outcome in rheumatoid arthritis. (2009) Autoimmun Rev. Epub. 2009. May 6. **IF:3,706**

Kumulatív impakt faktor: 48,763

Lektorált folyóiratban megjelenő, idézhető absztraktok:

Kapitány A., Zilahi E., Baráth S., Rass P., Sipka S., Szekanecz Z.: HLA-DR gének szerepe rheumatoid arthritisben 2003. AKI, VI/ 3. 110

Kapitány A., Korponay-Szabó I., Sipka S.: A HLA-DQ-tipizálás jelentősége a coeliakia diagnózisában. Magyar Immunológia 2003/3

G. Szűcs, Z. Szekanecz, E. Zilahi, A. Kapitány, S. Szántó, C. Kiss, Z. Nagy, L. Czirják
Scleroderma -rheumatoid arthritis overlap syndrome: association of genetic and clinical characteristics Tissue Antigens 2004; 64:403.

S. Sipka, A. Kapitány, J. Tumpek, I. Csípő, L. Tóth, G. Szegedi, I. Korponay-Szabó
Diagnostic significance of HLA-DQ2 and HLA-DQ8 testing in patients with coeliac disease Tissue Antigens 2004; 64:406.

A. Kapitány, E. Zilahi, P. Rass, S. Baráth, L. Gáspár, S. Sipka, G. Szegedi, Z. Szekanecz
Association of rheumatoid arthritis with HLA-DRB genotypes in north-eastern Hungary Tissue Antigens 2004; 64:429.

Szűcs G, Czirják I., Zilahi E, Kapitány A, et al. Scleroderma-rheumatoid overlap syndrome: A distinct genetic and clinical entity? Arthritis and Rheumatism 2005; 52(9):431.

Ponyi A, Constantin T, Kapitány A, Aleksza M, Lakos G, Varga Z, Moldovanyi I, Garami M, Németh I, Dankó K: Evaluation of myositis-associated autoantibodies and HLA class II association in adult onset idiopathic inflammatory myopathies. Annals of the Rheumatic Diseases 2006; 65:257.

Lakos G, Soós L, Szabó Z, Fekete A, Zeher M, Horváth I, Dankó K, Kapitány A, Szegedi G, Sipka S, Szekanecz Z: Antibodies directed against mutated citrullinated vimentin (anti-MCV) are more sensitive serological markers of rheumatoid arthritis than anti-CCP.

Annals of the Rheumatic Diseases 2006; 65:151.

Constantin T, Toldi-Nagy A, Kapitany A, Gyetvai Á, Nemeth J, Dajnoki A, Ponyi A, Danko K: Immunogenetic investigations in patients with adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies, preliminary results. Pediatric blood & Cancer 2007; 49(3):384.

Constantin T, Ponyi A, Toldi-Nagy A, Kapitany A, Gyetvai Á, Dankó K: Immunogenetic studies in hungarian patients with idiopathic inflammatory myopathies.

Annals of the Rheumatic Diseases 2007; 66:244-245.