

**KLINIKAI ÉS IMMUNOLÓGIAI VIZSGÁLATOK
KRÓNIKUS URTICARIÁBAN**

DR. IRINYI BEATRIX

**Témavezető: Dr. Szegedi Andrea egyetemi docens
Programvezető: Prof. Dr. Zeher Margit, Prof. Dr. Szegedi Gyula**

**DEBRECENI EGYETEM
ORVOS– ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
ÁLTALÁNOS ORVOSI KAR
BŐR- ÉS NEMIKÓRTANI KLINIKA
DEBRECEN, 2007.**

1. BEVEZETÉS

1.1. Az urticaria definíciója és osztályozása

Az urticaria esetében testszerte különböző nagyságú, általában hiperémiás, máskor porcelánszínű, viszkető vagy égő érzéssel kísért urticák jelentkeznek. Krónikus urticaria esetén a csalánkiütések több mint 6 héten keresztül naponta vagy közel naponta jelentkeznek. A krónikus urticaria gyakori bőrgyógyászati kórkép, mely a populáció 0,1-3%-át érinti. A krónikus urticaria egy komplex bőrbetegség, mely sokszor a betegek életminőségének romlását okozza a rohamszerűen jelentkező csalánkiütések, a kénző viszketések valamint a következetes alvászavarok miatt. Az esetek közel felében angioödémás panaszok is jelentkeznek és a bőrtünetek sokszor évekig tarthatnak. A betegség nehezen kezelhető, ezért valamennyi orvos számára nagy kihívást jelent.

A krónikus urticaria etiológiája heterogén. Kiváltásában különböző immunológiai és nem immunológiai faktorok szerepelhetnek, de sok esetben a valódi kiváltó ok nem kerül felismerésre. 2002-ben a klinikai gyakorlatban jól alkalmazható csoportosítás született, mely szerint a krónikus urticaria ritkábban kialakulhat pszeudoallergiás reakció (4%), lokális infekció (4%) vagy urticaria vasculitis (5%) talaján. Jóval gyakrabban, az esetek több mint egyharmadában fizikális urticariát (FU) vélelmeztek (35%), míg az autoimmun urticaria (AIU) diagnózisát 24%-ban tudták felállítani. Amennyiben a részletes vizsgálatok ellenére sem derül fény a kiváltó okra, akkor a krónikus idiopátiás urticaria (KIU) kimondható (28%).

Fizikális urticariák

Irodalmi adatok szerint a krónikus urticaria esetek több mint egyharmada fizikális urticariának (FU) tekinthető. A csalánkiütések közvetlenül a bőrt ért fizikai stimulus után jelennek meg és gyorsan, alig 1-2 óra alatt elmúlnak. A leggyakoribb FU formák a kolinerg urticaria és az urticaria factitia, mely kórképek leginkább kimerítik a krónikus urticaria diagnózisát, hiszen naponta rendszeresen jelentkeznek és súlyos klinikai és szubjektív panaszokat okoznak.

A kolinerg urticaria (KU), a FU akár 30%-ért is felelős. Kiváltó oka a

testhőmérséklet 1°C fokot meghaladó gyors emelkedése, mely fizikai munkavégzés, pszichés stressz vagy forró zuhany miatt alakulhat ki. A tünetek hátterében a test felmelegedése következtében kialakuló túlzott acetil-kolin felszabadulás áll, mely a hízósejtek degranulációját, majd következményes hisztamin felszabadulást idéz elő.

Közel hasonló gyakorisággal jelentkezik az urticaria factitia (UF), melyet a külföldi irodalomban szimptomás dermografizmusként is említene. A bőrt ért nyomás illetve dörzsölés vagy vakarás helyén rendkívül gyorsan eritémás udvarral övezett csalánfolt jelenik meg heves viszketés kíséretében.

Ritkább megjelenésű formák a hideg-, a meleg-, a fény-, és a késői nyomási urticariák.

Autoimmun urticaria

Az utóbbi évtizedben számos kutatócsoport vizsgálta a krónikus urticaria egy speciális csoportját, az autoimmun urticariát (AIU), mely irodalmi adatok szerint a krónikus urticariás betegek közel egyharmadát alkotja. Vizsgálatok igazolták, hogy a KIU betegek 58%-ban a saját szérum intrakután beadása után urtica jelenik meg a betegség aktív szakaszában, míg tünetmentes időszakban ez nem tapasztalható. Ez a megfigyelés szolgált alapul a ma használatos autológ szérum teszt kivitelezéséhez. Később arról is beszámoltak, hogy az urtica kialakulása IgG típusú anti-IgE autoantitesteknek tulajdonítható, és a betegek közel 10%-ban patogenetikai szerepe van. Több kísérlet bizonyította, hogy az anti-IgE antitest önmagában nem lehet felelős valamennyi krónikus urticariás szérum hisztamin felszabadító hatásáért. Mások arról számoltak be, hogy a krónikus urticariás betegek egy részének szérumában a nagy affinitású Fc ϵ -receptor I α -lánc ellen (Fc ϵ RI α) termelődő IgG típusú autoantitestek is megfigyelhetők, melyek egészséges betegek bazofil sejtjein in vitro hisztamin felszabadulást mutattak. Az AIU-ra jellemző a női dominancia, a súlyosabb, elsősorban éjszaka fokozódó tünetek, együttes előfordulás más autoimmun betegségekkel és hatékony terápiás válasz immunszuppresszív kezelésre.

1.2. Citokinek szerepe krónikus urticariában

A KIU betegek szövettani vizsgálataiban a kontrollok bőrmintájával összehasonlítva az eozinofilek, neutrofilek, bazofilek, makrofágok száma szignifikánsan magasabb, a triptáz pozitív hízósejtek száma szignifikánsan alacsonyabb volt. A CD3+, CD4+, CD8+ és a CD25+ T sejtek száma jelentősen emelkedettebb volt KIU-ban, mint egészséges kontrollokban és hasonló sejt infiltrátum volt megfigyelhető atopiások allergén expozíció hatására kialakult reakciójában, 24 órás időtartamot követően is. Az immunfluoreszcens kettős festés alapján igazolható volt, hogy a sejtek többsége CD25+ CD4+ T sejt. A bazofil hisztamin felszabadítás alapján autoantitest pozitívnak tartott, illetve negatív esetekben egyik sejt típusra vonatkoztatva sem volt különbség.

Irodalmi adatok szerint KIU-ban szövettani mintákon végzett in situ hibridizációs módszerekkel az IL-4 és IL-5 mellett az IFN- γ expresszió is fokozott mértékben kimutatható volt a normál kontrollokhoz képest. Mindezek alapján KIU-ban a Th0 fenotípust találták jellemzőnek a bőrben, de az is elképzelhető, hogy aktivált Th1 és Th2 sejtek keveréke által létrehozott citokin környezet jött létre. Saját vizsgálataink indulásakor nem voltak közlések a perifériás vér T sejtek citokin mintázatára nézve KIU-ban.

1.3. Az AIU diagnosztikája

A klinikai kép alapján nem lehet elkülöníteni a KIU és AIU-t. Bár a megfigyelések szerint az AIU tünetei súlyosabbak, kifejezettebb a szövetekben az eozinofil degranuláció, a periférián pedig csökkent bazofil sejtszám mutatható ki, azonban ezen eltérések segítségével sem állítható fel a biztos diagnózis. Az AIU diagnosztikájában gyakran használják az autológ szérumbőr tesztet (ASST), mely rutin, szűrő módszernek számít. Ennek a funkcionális módszernek előnye, hogy gyors és könnyen kivitelezhető. A teszt szenzitivitása közel 70%-os, specificitása pedig 80%-os. ASST pozitívitást az aktív KIU betegek 50-60%-ában lehet kimutatni. Az álpozitív reakció csökkentésére egyes szerzők az ASST 1/10 hígítású

szérummal való kivitelezését javasolják.

Az AIU definitív diagnózisához általában további vizsgálatok, egyéb funkcionális vagy kötődési próbák szükségesek. A gyakorlatban az egyik leggyakrabban használt funkcionális módszer a hisztamin felszabadulási teszt (HR). Jelenleg ez a legáltalánosabban elfogadott eljárás az autoantitestek kimutatására az AIU-ban. Bár az eljárás időigényes és nehéz a standardizálása, mégis „gold standard”-ként említi az irodalom. A különböző tanulmányokban a KIU szérumok 27-52 %-ban bizonyultak pozitívnak a hisztamin felszabadulási vizsgálatokban, a kiválasztott betegpopuláció és az alkalmazott donorsejtek függvényében.

1.4. A krónikus urticaria kezelése

A krónikus urticaria terápiája is komplex feladat és kihívást jelent a kezelőorvos számára.

Amennyiben kiváltó ágens kimutatható, akkor annak eliminálása a legfontosabb. A provokáló gyógyszerek kerülése, diéta, a fertőző góc megszüntetése, fizikális urticariák esetén a provokáló faktortól való tartózkodás javasolt. Gyógyszeres kezelésként első lépésben a felszabadult hisztamin okozta klinikai tünetek megelőzése a legfontosabb. A receptorokat lefedő, így hatásukat semlegesítő gyógyszerek a H1 receptor antagonisták, melyek monoterápiában elsőként választható készítmények. Ezek hatástalansága esetén két H1 receptor blokkoklót vagy egy H1 és egy H2 receptor antagonistát érdemes kombinálni.

Az antihisztamin kezelés ineffektivitása esetén több irodalmi közlés is az alacsony vagy közepes dóziszú szisztémás kortikoszteroid kezelést javasolja második terápiás lépésként. A kortikoszteroid elsősorban a késői fázisú reakció során kialakult gyulladást csökkenti. Jól ismertek a hosszú távú kortikoszteroid mellékhatásai, ezért csak a rövid ideig való alkalmazás indikált.

Az autoimmun urticaria azon eseteiben, amikor a fent említett terápiára javulás nem következik be, több közlés számol be plazmaferezisről, nagy dóziszú intravénás immunoglobulin, valamint a cyclosporin sikeres alkalmazásáról.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Célunk volt az AIU diagnosztikájában alkalmazott két funkcionális teszt, a korábban „gold standard”-ként elfogadott HR és egy új a bazofil CD63 expressziós módszer közötti korreláció vizsgálata.

2. Ezt követően tanulmányoztuk a módosított bazofil CD63 expressziós vizsgálat alkalmazhatóságát a klinikai gyakorlatban. A három leggyakrabban előforduló krónikus urticaria csoportot (FU, KIU, AIU) úgy hasonlítottuk össze, hogy az AIU diagnosztizálás felállítása a CD63 assayvel történt. A FU betegek diagnosztizálására fizikális teszteket alkalmaztunk, és elsőként vállaltuk, hogy összehasonlíjuk a KIU és AIU betegcsoportokkal.

2/a. Összehasonlítottuk a krónikus urticariás betegek demográfiai adatait, és az urticaria súlyosságát az urticaria score paraméterek segítségével.

2/b. Tanulmányoztuk, a krónikus urticariás betegek egyéni ill. családi kórtörténetében az atópiás, az allergiás és az autoimmun betegségek előfordulását, valamint bizonyos autoantitestek előfordulását.

2/c. Mindhárom betegcsoportban értékeltük a beállított terápia hatékonyságát.

3. A KIU betegeknél immunológiai vizsgálatokat végeztünk perifériás vérben: meghatároztuk a limfocita szubpopulációkat, az intracitoplazmatikus citokinek szintjét és detektáltuk a szolubilis citokin szinteket is.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Betegek

1. A HR és a CD63 assay korrelációjának vizsgálatában a Debreceni Egyetem OEC Bőrgyógyászati Klinika Allergológiai szakrendelésén gondozott 72 KIU beteg vett részt. Kontrollként 20 egészséges, nem atópiás egyént választottunk. Ezen kívül 15 bőrtünetekkel is rendelkező szisztémás lupus erythematosusban (SLE) szenvedő beteg és 11 dermatomyositis (DM) beteg szérumát is vizsgáltuk.

2. A limfocita szubpopulációk és a citokin szintek meghatározása során 22 KIU

beteget vizsgáltunk.

3. A klinikai vizsgálatokba 109 FU, KIU és AIU formákban szenvedő krónikus urticariás beteget vontunk be. AIU-t véleményeztünk, a CD63 teszt pozitivitása esetén. A 109 krónikus urticariás beteget egy nemzetközileg elfogadott kérdőív kitöltésére kértük. Azokat a betegeket, akiknél a krónikus urticaria több al csoportja egyidejűleg is bizonyítható volt, kizártuk a vizsgálatból. Legalább 4 nappal a vizsgálatok előtt felfüggesztettük az antihisztaminok adását, ill. egy beteg sem részesült kortikoszteroid vagy immunszuppresszív terápiában.

3.2. Módszerek

3.2.1. A donor sejtek szeparálása és stimulálása

Az atópiás (D_A) és nem atópiás (D_{NA}) donorból származó teljes vért 6 % Macrodexen ülepítettük 45 percig 37 °C-on. A fehérvérsejt frakciót leszívtuk. Ezt követően reszuszpendáltuk a sejteinket (10^7 /ml), majd 50 µl sejtet 50 µl krónikus urticariás szérummal (1:1-es, 1:5-ös és 1:10-es hígításban) vagy pufferrel inkubáltunk 40 percen át 37 °C-on. A reakciót jégfürdővel és 900 µl jéghideg Ca^{2+} -, Mg^{2+} - és BSA-mentes Hepes puffer hozzáadásával állítottuk le. Ezt követően a sejteket 5 percig centrifugáltuk 500g-n 4 °C-on. A sejtszuspenziót monoklonális antitestekkel festettük a CD63 BAT kivitelezéséhez. A felülúszót összegyűjtöttük, 70 °C-on tároltuk, majd elemeztük a hisztamin tartalmát.

3.2.2. A bazofil hisztamin felszabadulás mérése ELISA módszerrel (HR)

A krónikus urticariás szérumokkal előinkubált donor sejtek felülúszójából ELISA módszerrel végeztük el a hisztamin tartalom meghatározást a kitben (Immunotech, Marseille, France) szereplő útmutató alapján, duplikátumokban. A totál hisztamin meghatározáshoz 50 µl sejtszuspenzióhoz 950 µl desztillált vizet pipettáztunk azért, hogy lizáljuk őket. A fagyasztás és olvasztás folyamatát kétszer megismételtük, így a sejtek lizálásával kinyertük a sejt teljes hisztamin tartalmát. A vizsgálat kiértékelésekor a spontán hisztamin felszabadulást levontuk. Az

eredményeket a totál hisztamin tartalom százalékaként fejeztük ki. A spontán hisztamin felszabadulás kevesebb volt a totál hisztamin tartalom 5 %-ánál. A különböző donorok „cut-off” értékeit a 20 egészséges kontroll széruma által indukált hisztamin felszabadulás 95 percentiliseként határoztuk meg (D_A : 11,6 % és D_{NA} : 7,3 %).

3.2.3. Bazofil sejtfelszíni CD63 expresszió (CD63 assay) vizsgálata áramlási citofluoriméterrel

A krónikus urticariás szérumokkal előinkubált donor sejteket anti-IgE-FITC és anti-CD63-R-phycoeritrein (PE) konjugált monoklonális antitestekkel (mindkettő a Caltag Laboratories, Burlingame, CA, USA terméke) festettük. A még jelen lévő vörösvértesteket lizáló reagens hozzáadásával lizáltuk. A sejteket átmostuk, majd az IgE és CD63 kettősen pozitív bazofil sejteket Becton Dickinson FacsCalibur áramlási citométerrel mértük. Mintánként legalább 500-1000 bazofilt mértünk az áramlási citofluoriméterrel. Pozitívnak akkor tekintettük az eredményt, ha a 20 negatív, egészséges kontroll szérum által indukált CD63+ sejszám 95 percentilisénél magasabb volt a kapott érték. (A különböző donor „cut off” értéke: D_A : 5,1 %; D_{NA} : 2,2 %).

3.2.4. Autoantitestek detektálása

A tireoglobulin elleni antitestek (a-TG), a tireoid-peroxidáz elleni antitestek (a-TPO) és az extrahálható nukleáris antigén ellenes antitestek (a-ENA) szintjét ELISA módszer segítségével határoztunk meg (Hycor Biomedical GmbH, Kassel, Germany), melyet a gyártó utasításai szerint mértük. A szérum anti-endoteliális autoantitestjeinek (AECA) koncentrációját is ELISA-val mértünk korábban közölt módszer szerint.

3.2.5. A limfocita szubpopulációk és aktivált T sejtek meghatározása

A sejtfelszíni CD markerek meghatározása heparinnal alvadásgátolt vérből történt. A vizsgálatok során fluoreszcens festékekkel konjugáltatott monoklonális

ellenanyagokat használtunk: anti-human CD3-FITC (Fluorescein Isothiocyanate), anti-human CD4-PE (Phycoerythrin), anti-human CD8-FITC, anti-human CD19-PerCP, anti-human CD3-FITC/HLA-DR-PE Serotec, anti-human CD69-CyChrome Pharmingen. A mintákat Coulter QPREP protokoll alapján dolgoztuk fel. A festés és a fixálás után a mérés COULTER EPICS XL-4 áramlási citométeren történt. A fehérvérsejt szubpopulációkat nagyságuk és granuláltságuk alapján különítettük el. A feltüntetett százaléktételek az adott markerre pozitív limfociták arányát mutatják a mintánként lemért 5.000 limfocitán belül.

3.2.6. Intracitoplazmatikus citokinek meghatározása

Az intracelluláris citokinek festését heparinnal alvadásgátolt vérből végeztük a Becton Dickinson „Intracellular Staining Procedure” utasításai szerint. A sejteket négy órán keresztül stimuláltuk 25 ng/ml phorbol-myristate-acetate-tal (PMA) (SIGMA) és 1 ng/ml Ionomycinnel (SIGMA). A termelődött citokinek kiürülését Brefeldin-A-val (10 µg/ml) (SIGMA) gátoltuk. A stimulálást követően először a sejtfelszíni CD4 és CD8 molekulákat jelöltük meg speciális monoklonális ellenanyagokkal. A sejteket 30 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk 15 µl quantum red-del (QR) konjugáltatott anti-CD4 illetve anti-CD8-cal (SIGMA). Ezt követően lizáltuk az eritrocitákat és fixáltuk a sejteket, majd permeabilizáltuk a sejtmembránt. A sejtmembrán átjárhatósága teszi lehetővé azt, hogy az intracelluláris IFN-γ-t, IL-4-t, IL-10-t és IL-13-t specifikus monoklonális ellenanyagok segítségével azonosítsuk. Végül a sejteket 1%-os paraformaldehid oldattal fixáltuk. A mintákat COULTER EPICS XL-4 áramlási citométerrel mértük le és értékeltük. A T helper illetve T citotoxikus limfocitákat fényszórási paramétereik és sejtfelszíni CD4 illetve CD8 pozitivitásuk alapján azonosítottuk. Minden mintából legalább 5000 sejtet vizsgáltunk, és meghatározva a jelölt citokinek expresszálo CD4+ vagy CD8+ sejtek százalékos arányát, következtettünk a különböző limfocita szubpopulációk arányára.

3.2.7. Szolubilis citokin szintek vizsgálata

ELISA technika segítségével határoztuk meg a szérumban keringő citokinek (IL-4, IL-10 és IFN- γ) koncentrációját (Pharmingen, anti-human OptEIA ELISA setek).

3.2.8. Fizikai tesztek

Amennyiben az anamnézis alapján felmerült a FU-k valamelyikének lehetősége, egyszerű fizikális tesztek végeztünk: dermografizmust, aktív testmozgással emeltük a beteg testhőmérsékletét, jégkocka tesztet, melegpróbát, nyomási tesztet alkalmaztunk.

3.2.9. Autológ szérumbőr teszt

A beteg szérumból (melyet a beteg véreből 500 g fordulaton 15 perces centrifugálás után nyertünk) 0,05 ml-t intrakután injektálunk a klinikailag tünetmentes alkar hajlító felszínébe. Negatív kontrollként 0,1 ml 0,9%-os fiziológias sóoldatot, pozitív kontrollként 10 μ g/ml töménységű hisztamin oldatot intrakután fecskendeztünk be. A reakciót 30 perccel a teszt elvégzése után vizsgáltuk: pozitívnak értékeltük a próbát, ha a szérumbeadásának helyén kialakult hiperémiás csalánkiütés átmérője $\geq 1,5$ mm-rel nagyobb, mint a fiziológias sóoldatra adott válasz.

3.2.10. Kérdőív

Minden beteg kérdőívet töltött ki. Az űrlap alapján számos hiteles információt nyertünk a nemek közötti megoszlásról, a tünetek súlyosságáról és a betegség lefolyásáról. A személyes és családi anamnézist alaposan tanulmányoztuk figyelemmel kísérve más típusú urticaria, allergiás-, és autoimmun betegség előfordulását a beteg saját-, és családi anamnézisében.

3.2.11. Az urticaria súlyosságának mérése az urticaria score segítségével

A Breneman és mtsai által alkalmazott urticaria score-t használtuk fel a krónikus urticariás betegek súlyosságának megállapítására. A heterogén csoportot képező FU betegek vizsgálatánál csak a két leggyakrabban előforduló, súlyos tünetekkel járó és folyamatosan fennálló fizikális urticariát reprezentáló csoportnál

(KU és UF) alkalmaztuk a súlyossági pontrendszer paramétereit. A skála használható a léziók lokalizációjának, méretének, fennállási idejének, az epizódok gyakoriságának és a viszketés intenzitásának leírására, melyet 0-3-ig pontozunk. Az összesített pontszámok a beteg súlyossági indexét mutatták.

3.2.12. Terápiás protokoll

Valamennyi krónikus urticariás betegnél első lépésként hisztamin receptor antagonistát alkalmaztunk. A betegek először második generációs H1 receptor antagonistát kaptak (cetirizine 10mg/nap). Amennyiben a kezelésre nem reagáltak megfelelően a cetirizine dózisát emeltük (20mg/nap), ineffektivitás esetén kombináltan alkalmaztunk szedatív antihisztamint (hydroxyzine 2x25mg/nap) és H2 receptor antagonistát (cimetidine 2x400mg/nap). A terápiát eredménytelennek tekintettük a kifejezett szubjektív panaszok változatlan fennállása esetén vagy amennyiben a totál urticaria score értéke kevesebb, mint 50%-kal csökkent. Második vonalbeli szerként rövid ideig per os kortikoszteroidot (metilprednisolone 32mg/nap, 5 naponta 4mg-mal csökkentve) alkalmaztunk a KIU és AIU betegek esetében. Amennyiben az AIU betegeknél ez a kezelés is hatástalan volt, akkor 3. lépésként 3 hónapon át cyclosporin kezelést indítottunk 3 mg/kg/nap kezdő dózissal.

3.2.13. Statisztikai analízis

A laboratóriumi vizsgálatokban normális eloszlású adatok eredményeinél a Student-féle kétmintás T próbát alkalmaztuk. A nem-normális eloszlású csoportok eredményeit Mann-Whitney U teszttel hasonlítottuk össze, míg több csoport összehasonlításánál a „One way ANOVA” eljárást alkalmaztuk.

A klinikai vizsgálatok eredményeit Fischer féle statisztikai próbával értékeltük.

A $P < 0,05$ -ös értéket tekintettük szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A HR és a CD63 assay együttes vizsgálata

A D_A sejteit használva a KIU-s betegek széruma szignifikánsan magasabb

hisztamin felszabadulást eredményezett, összehasonlítva a D_{NA} bazofiljeivel kapott eredményekkel.

Az ASST + csoportban a KIU szérumok 85 %-a indukált hisztamin felszabadulást az D_A , és 55 %-a a D_{NA} sejtjein. Az ASST+ KIU-s szérumok mindkét donor sejtjeinek esetében (D_A és D_{NA}) szignifikánsan magasabb hisztamin felszabadulást váltottak ki, összehasonlítva az ASST- KIU-s betegek szérumaival. Az SLE-s és DM-es betegek széruma nem szabadított fel hisztamint sem a D_A , sem a D_{NA} sejtekből.

A D_A bazofil sejtjein jóval nagyobb mértékű CD63 felszíni expressziót tudunk kimutatni a KIU-s betegek szérumával történő inkubáció után, mint a D_{NA} bazofiljein. A szérumokat két csoportba osztottuk a hisztamin felszabadulási vizsgálatban (HR) megfigyelt reaktivitásuk alapján (HR+, HR-). A HR+ szérumok 97 %-a eredményezett CD63 indukciót a D_A bazofil sejtjein, míg ugyanezen szérumok 83 %-a indukált CD63 expressziót a D_{NA} sejtjeit használva. Mindkét donor bazofil sejtjeit HR+ KIU-s szérumokkal indukálva jelentősen nagyobb mértékű CD63 expressziót tapasztaltunk a sejtek membránjának felszínén, mint a HR- KIU-s szérumokkal történő inkubációt követően.

Mindkét donor bazofiljeinek felszínén az ASST+ krónikus urticariás szérumokkal történő stimuláció jóval nagyobb mértékű bazofil aktivációs marker (CD63) expressziót eredményezett, összehasonlítva az ASST- krónikus urticariás szérumokkal végzett stimuláció eredményeivel. SLE-ben és DM-ben szenvedő betegek széruma nem indukált CD63 expressziót a donor sejteken.

4.2. Összefüggés az autológ szérum bőrteszt (ASST), a CD63 expressziós vizsgálat és a hisztamin felszabadulás mérés (HR) között

A HR vizsgálat és a CD63 expressziós vizsgálat eredményei között szignifikáns korrelációt tapasztaltunk (D_A : $r=0.91$, D_{NA} : $r=0.70$, $P<0.001$ mindkettő esetén) az egyes betegek esetén kapott értékek vizsgálata során. A HR és az ASST eredményeit összehasonlítva csak abban az esetben tapasztaltunk korrelációt, amikor

a D_A sejtjein végeztük a vizsgálatot. Az ASST és a BAT pozitivitása között ugyancsak D_A alkalmazása során kaptunk korrelációt.

4.3. Klinikai vizsgálatok eredményei

109 krónikus urticariás beteg 53,2%-nál pozitív ASST-t, 43%-nál pedig a CD63 assay pozitivitást detektáltunk. 11 betegnél az ASST pozitivitás ellenére a CD63 teszt negatív lett, ezeket a betegeket a KIU csoportba soroltuk.

4.4. Demográfiai adatok

109 krónikus urticariás beteg 43%-a szenvedett AIU-ban, 32%-a KIU-ban 25%-a FU-ban. A krónikus urticariás betegek átlagéletkora $39,8 \pm 15,8$ (13-74) év. Az AIU alcsoportban az átlagéletkor $43,1 \pm 15,8$ év, a KIU alcsoportban $38 \pm 13,7$ év és a FU alcsoportban $32,7 \pm 17,8$ év volt. Az alcsoportok között az átlag életkorában nem találtunk szignifikáns különbséget. A krónikus urticariás betegek között a nő:férfi arány 3,0:1, mely statisztikailag szignifikáns női dominanciát jelentett. A nő:férfi arány az AIU csoportban 6,9:1, a KIU csoportban 2,5:1 és a FU csoportban pedig 1,5:1. Szignifikáns különbséget a nemek megoszlásában csak az AIU és a FU csoportok között találtuk.

4.5. Az urticaria score paramétereinek értékelése

4.5.1. Az AIU betegek lokalizációs score értéke 2,6, a KIU-nál 2,0, az UF-nál 1,23 és a KU-nál 1,55 volt. Szignifikáns különbséget találtunk az AIU és KIU, az AIU és UF ill. az AIU és KU betegek között. Szintén szignifikáns különbség mutatkozott a KIU és KU ill. a KIU és UF betegek között.

4.5.2. Az AIU alcsoportban a kiütések átlagos fennállási ideje (megjelenéstől eltűnésig) 9 óra volt, mely 2,74 score értéket képviselt. A KIU betegek esetén 4,45 óra volt a kiütések átlagidőtartama, ez 2,14 score értéknek felelt meg, míg a UF betegeknél észlelt urtica fennállási idő 0,81 óra és 1,0 pont, illetve a KU betegeknél 0,79 óra, mely 1,0 pont volt. Az eredmények szignifikáns különbséget mutatnak az AIU és KIU, az AIU és UF valamint az AIU és KU betegek között. Szintén szignifikánsnak mondható a KIU és UF ill. a KIU és KU

esetek közti eltérés

4.5.3. A 109 krónikus urticariás beteg csalánkiütéseinek átlagos nagysága $2,36 \pm 1,54$ cm volt. Az átszámított score értékek az AIU betegeknél 1,9, a KIU betegeknél 1,3, az UF betegeknél 1,76 és a KU betegeknél 1,1 pont volt. Szignifikáns volt a különbség az AIU és KIU, ill. az AIU és KU között, valamint a KIU és UF ill. az UF és KU között.

4.5.4. Az urticaria epizódok gyakorisága alapján megítélt átlagos pontérték az AIU esetén 2,85, a KIU-ban 2,17, míg az UF-ban és a KU-ban egyaránt 1,7. Ezen értékek alapján az urticaria epizódok gyakoriságában szignifikáns különbséget láttunk az AIU és KIU esetek között ill. az AIU és UF valamint az AIU és KU esetek között.

4.5.5. A viszketési skála szerint az AIU-s betegek átlagos pontértéke 2,8, míg a KIU, az UF és a KU betegek esetén 2,37, 2,0 és 2,1 volt. Szignifikáns volt a különbség az AIU és KIU, az AIU és UF ill. az AIU és KU között. A viszketési score érték szintén szignifikáns különbséget mutatott a KIU és UF betegek esetén.

4.5.6. A fent említett paraméterek összegzésével számoltuk ki az összesített pontszámot, így minden egyes beteg rendelkezett egyéni urticaria score index-szel (= a betegség súlyossága). Az összesített súlyossági index az AIU-ban 12,89, a KIU-ban 9,98, az UF-ban 7,69 és a KU-ban 7,45 volt. Ezek alapján szignifikánsan különböztek az AIU és UF, az AIU és KU ill. az AIU és KIU betegek összesített urticaria score értékei.

4.6. Kísérő betegségek a krónikus urticaria alcsoportjaiban

A krónikus urticariás betegek 23%-a említette családi anamnézisében valamilyen urticaria típus megjelenését. AIU betegek 48,9%-a, a KIU 5,7%-a és a FU 3,7%-a rendelkezett urticariára nézve pozitív családi anamnézissel. Ez szignifikáns különbséget jelentett az AIU és KIU, illetve az AIU és FU csoportok között.

A betegek 22%-a számolt be kórtörténetében autoimmun betegségről. Az

AIU betegek több mint fele (51%) említett kórelőzményében valamely más autoimmun betegséget, míg a KIU és FU betegek egyikénél sem találtunk erre példát. Így szignifikáns különbséget igazoltunk az AIU és KIU ill. az AIU és FU csoportok között. Leggyakrabban autoimmun thyreoiditis (44,6%), rheumatoid arthritis (4,2%) és vitiligo (17%) fordult elő AIU esetekben.

4.7. Autoantitestek tanulmányozása

Az AIU-s betegek szérumában szignifikánsan gyakrabban jelentek meg pajzsmirigy ellenes autoantitestek, összehasonlítva a többi urticaria alcsoporttal. A krónikus urticariás betegek 11%-ában találtunk anti-tireoidea autoantitesteket (a-TG, a-TPO). Az AIU-s betegeknek 23%-ában, a KIU-s betegeknél csak egy esetben detektáltunk a-TPO pozitivitást, de a FU-s betegek szérumában nem tudtunk kimutatni anti-tireoidea pozitivitást. Eszerint az anti-tireoidea autoantitestek AIU-ban szignifikánsan gyakrabban jelentek meg, mint az egyéb alcsoportokban. Más autoantitestek (a-ENA és AECA) vonatkozásában nem találtunk szignifikáns különbséget az alcsoportok között.

4.8. Terápia

A krónikus urticariás betegek 45%-ában bizonyult hatékonynak az antihisztamin terápia. A FU betegek 70,3%-a, a KIU betegek 68,6%-a, míg az AIU betegek mindössze 12,8%-a reagált az első lépésként alkalmazott terápiára. A második lépésként szisztémás kortikoszteroid terápiát alkalmaztunk, mely hatékonynak bizonyult a KIU betegek 63,6%-nál és az AIU betegek 53,6%-nál. 19 betegnél volt szükség cyclosporin adására, ennek hatására 15 beteg tünetmentessé vált (78,9%), 4 beteg nem reagált a kezelésre ill. recidiváltak bőrtünetei.

4.9. Limfocita szubpopulációk meghatározása KIU-ban

A sejtfelszíni CD markerek vizsgálata során a CD3+, CD4+, CD8+ illetve CD19+ sejtek esetén jelentős eltérést nem tudtunk detektálni az egészséges és betegpopuláció értékei között. A CD3+ T limfocitákon belül az aktivált T sejtek százalékos arányát is vizsgáltuk. A HLA-DR-t (késői aktivációs marker) expresszáló

T limfociták arányának szignifikáns emelkedését tapasztaltuk a krónikus urticariás betegcsoportban a kontroll csoporthoz képest, míg a korai aktivációs marker (CD69) esetén nem tapasztaltunk eltérést.

4.10. Intracitoplazmatikus citokinek KIU-ban

A limfociták intracelluláris citokinjeinek vizsgálata mind CD4+, mind CD8+ T sejtek esetén szignifikánsan csökkent expressziót tapasztaltunk a KIU-s betegekben. Az IL-10 expresszióját tanulmányozva a krónikus idiopátiás urticariás betegekben a Th és Tc sejtek szignifikánsan emelkedett IL-10 expresszióját detektáltuk a kontroll csoportban mért expressziókhoz képest. További vizsgálataink során a CD4+ T limfociták szignifikánsan csökkent IL-4 expresszióját mértük, míg a CD8+ T sejtek emelkedett IL-4 expressziója volt kimutatható a betegcsoportban az egészséges kontrollokhoz képest, mely eltérés azonban nem volt szignifikáns. Ugyanakkor a CD4+ T limfociták és CD8+ T limfociták IL-13 expressziója a betegcsoportban nem szignifikáns emelkedést mutatott a kontroll csoporthoz képest.

4.11. Szolubilis citokin szintek

A szérumban ELISA technika segítségével határoztuk meg a keringő IL-4, IL-10 és IFN- γ koncentrációját. Valamennyi citokin esetén emelkedett szérum koncentrációt mutattunk ki, de az eltérések nem voltak szignifikánsak az egészséges kontroll csoporthoz képest.

5. MEGBESZÉLÉS

Az utóbbi évtizedben számos klinikai megfigyelés és kísérletes adat bizonyította, hogy a KIU csoporttól elkülöníthető egy új krónikus urticaria csoport, az AIU. A betegség laboratóriumi diagnózisa nehéz, elsősorban a rendelkezésre álló laboratóriumi módszerek hiányosságai miatt. Jelenleg a bazofil HR standard módszernek számít a betegség diagnosztizálásakor a funkcionális autoantitestekkel rendelkező betegek azonosításában, de a módszer kivitelezése nehéz, számos laboratóriumban nincsenek meg a feltételek a rutinszerű alkalmazáshoz.

2004-ben Gyimesi és mtsai az irodalomban először sikeresen alkalmazták a CD63 molekula sejtfelszíni kimutatására épülő módszer módosított változatát a krónikus urticaria autoimmun formájának diagnosztizálására. A funkcionális teszt segítségével kimutatták, hogy az erősen szenzibilizált D_A bazofil sejtjei IL-3-mal történő kezelés nélkül sikeresen használhatók in vitro az AIU áramlási citofluorimetriás vizsgálatában. Pozitív korrelációt mutattak ki a bazofil CD63 expressziós vizsgálat és az ASST között.

Célul tűztük ki, hogy a „gold standard”-nak számító HR és a CD63 sejtfelszíni expressziós módszer korrelációját megvizsgáljuk. Vizsgálataink során a két funkcionális teszt között pozitív korrelációt találtunk mind D_A , mind a D_{NA} bazofil sejtjeit használva. A legújabb irodalmi közlések szintén jó korrelációt találtak az ASST és a CD63 expressziós vizsgálat között krónikus urticariás betegekben. Kimutatták, hogy a szérumok IgG frakciója felelős a CD63 expresszióban megnyilvánuló aktivációért és javasolták az ASST és a CD63 expressziós teszt együttes alkalmazását az AIU diagnosztikájában, melyet a mi eredményeink is megerősítettek. A CD63 assay AIU diagnosztikájában való alkalmazásának pozitív megítélését bizonyítja, hogy a legújabb nemzetközi közlemények is elfogadják és alkalmazzák.

További célunk volt a CD63 teszt klinikai alkalmazhatóságának tanulmányozása. Nagyszámú beteganyagot vizsgáltunk, akiknél az AIU diagnózisát a DC63 assay alapján mondtuk ki. Az irodalomból ismert, hogy amennyiben a HR alapján választották szét a krónikus urticariás betegeket az AIU szignifikánsan súlyosabbnak mutatkozott, mint a KIU. Ugyanakkor az ASST alapján végzett csoportosítás esetén nem mutatható ki szignifikáns különbség a krónikus urticaria csoportok között, vagyis az ASST önmagában nem használható az AIU diagnózisának felállításához. Elsőként vállaltuk, hogy a FU csoportot összehasonlítjuk az AIU és KIU-val.

Saját vizsgálatunkban a krónikus urticariás betegek 43%-a AIU, 32%-a

KIU, míg 25%-a FU beteg volt. 75%-os női dominanciát (3:1) láttunk a krónikus urticariás betegek között, és egy még szignifikánsabb női dominanciát demonstráltunk az AIU csoporton belül. Eredményeink számos irodalmi adattal megegyeznek.

A betegségek súlyosságának megállapításakor az összesített urticaria score értékei alapján az AIU-t szignifikáns súlyosabbnak észleltük a többi krónikus urticaria csoporthoz képest. Eredményeink egybeesnek más irodalmi közlésekkel, miszerint a szérum autoantitestekkel rendelkező betegek szignifikánsan magasabb urticaria score-ral jellemezhetők. A vizsgált súlyossági index alapján bár az összesített urticaria score magasabb volt a KIU csoportban, de a KIU az UF és a KU betegek súlyossági értékei között nem észleltünk szignifikáns eltérést.

Számos tanulmány vizsgálta az AIU betegek szérumában detektálható autoantitesteket. Eredetileg 1983-ban figyelték meg tiroidea elleni autoantitestek (a-TG, a-TPO) gyakoribb előfordulását krónikus urticariás betegekben, és azóta több vizsgálatban is detektáltak ilyen típusú autoantitesteket. Ezen eredményekkel összhangban mi is szignifikánsan nagyobb gyakorisággal tapasztaltuk tiroidea elleni antitestek megjelenését AIU-ban, mint a másik két alcsoportban. Vizsgálatunkban nem tudtunk szignifikánsan magasabb anti-ENA és AECA szintet kimutatni a krónikus urticariás betegek egyik alcsoportjában sem.

Az AIU-ban szignifikánsan gyakoribb volt urticaria előfordulása a családi anamnézisben, összehasonlítva a KIU és FU alcsoportokkal. Ennek tanulmányozására nem találtunk példát az irodalomban. A szakmai közlésekkel megegyezően más atópiás és allergiás betegségek vonatkozásában viszont nem találtunk szignifikáns különbséget az alcsoportok között.

A krónikus urticariás betegek kezelésében három lépcsős protokollt alkalmaztunk. Minden krónikus urticariás beteg első lépésben antihisztamint kapott, melyre a betegek 45%-a jól reagált. Vizsgálatunkban az első vonalbeli kezelés a KIU betegek 68,6%-ában, a FU betegek 70,3%-ában és az AIU betegek 12,8%-ában

bizonyult hatékonynak. Ezek alapján az AIU nemcsak a krónikus urticaria legsúlyosabb formájának számít, de egyúttal legkevésbé reagál a hagyományos antihisztamin terápiára. A terápia rezisztencia lehet az egyik legfontosabb oka annak, hogy a centumokban megjelenő AIU betegek aránya magasabb. Azoknál a KIU és AIU betegeknél, akiknél az első vonalbeli kezelés ineffektívnek bizonyult, per os kortikoszteroid kezelést indítottunk. Az orális kortikoszteroidokkal kezelt KIU beteg közül 63,6%, míg az AIU beteg közül 53,6% reagált jól. Az orális kortikoszteroidokra nem reagáló AIU betegeknél cyclosporin terápiát indítottunk, melyre 78,9%-uk vált tünetmentessé.

Vizsgálatainkban, az irodalomban elsőként, arra is kerestünk a választ, hogy kimutatható-e jellegzetes T1 vagy T2 túlsúly a KIU-s betegek perifériás vérében. Sejtes vizsgálataink során a limfocita szubpopulációk eloszlásában nem találtunk különbséget a kontroll egyénekhez képest. A CD3+ T limfocitákon belül az aktivált T sejtek százalékos arányát vizsgálatakor a HLA-DR-t expresszáló T limfociták arányának szignifikáns emelkedését tapasztaltuk a beteg populációban az egészséges kontrollhoz képest, míg a korai aktivációs marker vonatkozásában nem találtunk eltérést.

A T sejtek intracitoplazmatikus citokin termelését KIU-s beteg bőrmintáiban már többen vizsgálták, és nem tudtak sem Th1, sem Th2 dominanciát kimutatni, mivel mind az IL-4 és IL-5, mind az IFN- γ mRNS expresszió emelkedett volt KIU-s bőrmintákban a normál kontrollokhoz képest. A perifériás vér mononukleáris sejtek citokin termelését nem vizsgálták. Saját eredményeink alapján először számoltunk be arról, hogy a perifériás vér T sejtekben nem mutatható ki domináns T1 vagy T2 citokin termelés, hiszen mind CD4+, mind CD8+ T sejtek esetén szignifikánsan csökkent IFN- γ , a CD4+ T limfociták esetében pedig szignifikánsan csökkent IL-4 expressziót is tapasztaltunk a KIU-s betegekben. Ugyanakkor az IL-13-t expresszáló CD4+ és CD8+ T limfociták száma, valamint az IL-4 termelő CD8+ sejtek száma nem mutatott szignifikáns emelkedést a kontroll csoporthoz képest. Ezzel

párhuzamosan azonban, jelentősen emelkedett mind a CD4+ Th, mind a CD8+ Tc limfociták IL-10 termelése KIU-s betegekben.

Az IL-10 egy immunreguláló citokin, melyet a Tr1 sejtek termelnek és egyaránt gátló hatást fejt ki a Th1 és Th2 típusú sejtek proliferációjára és citokin termelésére. Eredményeink birtokában elképzelhető, hogy a fokozott IL-10 termelés következtében vált mind a Th, mind a Tc limfociták IFN- γ termelése nagymértékben gátolttá. Az IL-10 gátló hatására a Th2 sejtekben is csökkent az intracelluláris IL-4 expresszió.

6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. Vizsgálataink alapján elsőként állapítottuk meg, hogy a bazofil CD63 expressziós assay szignifikáns korrelációt mutat a bazofil HR teszttel atopiás és nem atopiás donor sejteken is. Az eredményeink bizonyították a CD63 expresszió mérésén alapuló módszer alkalmasságát és megbízhatóságát az autoimmun patomechanizmusú krónikus urticaria diagnosztizálására.

2. 109 krónikus urticariás beteg vizsgálata során a CD63 assay alapján különítettük el az AIU betegeket. Elsőként vállaltuk, hogy a FU betegek heterogén betegcsoportját összehasonlíjuk az AIU és KIU csoportokkal. Eredményeink alapján az AIU betegeknél statisztikailag szignifikáns női dominanciát igazoltunk. A klinikai paraméterek alapján az AIU formát találtuk a legsúlyosabbnak. Ezen betegeknél szignifikánsan gyakoribb társulást észleltünk egyéb autoimmun betegségekkel, ill. az AIU betegek szérumában szignifikánsan gyakrabban jelentek meg pajzsmirigy ellenes autoantitestek. Az antihisztamin kezelésre az AIU betegek kevésbé reagáltak, ami szintén a betegség súlyosságát tükrözi. Az irodalomban először észleltük az egyéb típusú urticariák szignifikáns társulását az AIU betegek családi anamnézisében. A vizsgálatok alapján a KIU súlyosabb klinikai tünetekkel jár összehasonlítva a FU-val, de a különbség nem szignifikáns.

3. Elsőként közöltük továbbá, hogy a KIU betegek szérumában sem Th1, sem Th2 túlsúly nem mutatható ki, de az IL-10 termelő regulatorikus T sejtek aránya szignifikánsan magasabb. A limfocita szubpopulációk vizsgálata során a KIU betegek esetében a HLA-DR-t expresszáló aktivált T limfociták arányának szignifikáns emelkedését detektáltuk az egészséges kontrollhoz képest.

7. KÖZLEMÉNYEK

Az értekezésben felhasznált közlemények:

1. **Irinyi B**, Aleksza M, Antal-Szalmás P, Sipka S, Hunyadi J, Szegedi A: Cytokine production of CD4+ and CD8+ peripheral T lymphocytes in patients with chronic idiopathic urticaria. Act Derm Vener 2002; 82: 249-253.
Impakt faktor: 1,58
Független citáció: 9
2. **Irinyi B**, Aleksza M, Antal-Szalmás P, Sipka S, Hunyadi J, Szegedi A: Citokin szintek vizsgálata krónikus idiopátiás urticariában szenvedő betegekben. Bőrgyógy Ven Sz 2003; 79(1): 3-7.
3. Szegedi A, **Irinyi B**, Gál M, Hunyadi J, Dankó K, Kiss E, Sipka S, Szegedi Gy, Gyimesi E: Significant correlation between the CD63 assay and the histamine release assay in chronic urticaria. Br J Dermatol 2006; 155(1):67-75.
Impakt faktor: 2,445
Független citáció: 1
4. Szegedi A, **Irinyi B**, Csuth Á, Tengely É, Hunyadi J, Sipka S, Gyimesi E: A bazofil aktivációs teszt és a hisztamin felszabadulás mérés összehasonlító vizsgálata a krónikus autoimmun urticaria diagnosztikájában. Bőrgyógy Vener Sz 2006; 82(3): 119-125.
5. **Irinyi B**, Széles Gy, Gyimesi E, Tumpek J, Herédi E, Dimitrios G, Ádány R, Hunyadi J, Szegedi A: Clinical and laboratory examinations in the subgroups of chronic urticaria. In Arch Allergy Immunology 2007 (közlésre elfogadva)
Impakt factor: 2,2

Egyéb közlemények:

1. **Irinyi B**, Szegedi A, Emri G, Bégány Á, Hunyadi J: Dermatitis herpetiformis Duhring Sumetrolim kezelése. Bőrgyógy Ven Sz 2001; 77(1): 23-26.
Nívó-díj (2002)

-
2. Szegedi A, **Irinyi B**, Bessenyei B, Hunyadi J, Semsei I: UVB light and 17- β -estradiol have different effects on the mRNA expression of Ro/SSA and La/SSB autoantigens in HaCaT cells. Arch. Derm. Res.2001; 193: 275-282.
Impakt faktor: 1,425
Független citáció: 1
3. Szegedi A, **Irinyi B**, Hunyadi J: A krónikus urticaria. Bőrgyógy Ven Sz 2002; 78(3): 101-106.
Független citáció: 4
4. Aleksza, M, **Irinyi, B**, Lukács, A, Antal-Szalmás, P, Hunyadi, J, Szegedi, A: Increased frequency of intracellular IL-13 and IL-10, but not IL-4 expressing CD4+ and CD8+ peripheral T cells of patients with atopic dermatitis. Br J Dermatol 2002; 147: 1135-1141.
Impakt faktor: 2,6
Független citáció: 23
5. Szegedi, A, Aleksza, M, Gonda, A, **Irinyi, B**, Sipka, S, Hunyadi, J, Antal-Szalmás, P: Elevated rate of Thelper1 (T_H1) lymphocytes and serum IFN- γ levels in psoriatic patients. Immunology Letters 2003; 86: 277-280.
Impakt faktor: 1,49
Független citáció: 10
6. **Irinyi B**, Zeher M., Hunyadi J, Szegedi A: Autoimmun urticaria Cyclosporin A kezelése. Magyar Immunológia 2004; 3(1): 46-48.
7. **Irinyi B**, Hunyadi J: Az atopias dermatitis újabb terápiás lehetőségei. Családorvosi Fórum 2004; 9: 16-20.
8. Gyimesi E, Sipka S, Dankó K, Kiss E, Hídvégi B, Gál M, Hunyadi J, **Irinyi B**, Szegedi A: Basophil CD63 expression assay on highly sensitised atopic donor leukocytes- a useful method in chronic autoimmune urticaria. Br J Dermatol 2004; 151: 388-396.
Impakt faktor: 2,445
Független citáció: 18
9. Szegedi A, Aleksza M, **Irinyi B**, Hunyadi J: Az atopiás dermatitis immunológiai háttere. Bőrgyógy Ven Sz 2004; 80(3): 133-137.
Független citáció: 1

-
10. Aleksza M, Szegedi A, Antal-Szalmás P, **Irinyi B**, Gergely L, Ponyi A, Hunyadi J, Sipka S, Zeher M, Szegedi Gy, Dankó K: Altered cytokine expression of whole blood Thelper and Tcytotoxic lymphocytes of patients suffering from polymyositis and dermatomyositis. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64: 1485-1489.

Impakt faktor: 3,916

Független citáció: 1

11. Sümegi A, Szegedi A, **Irinyi B**, Gál M, Hunyadi J, Antal-Szalmás P: Altered serum concentration and altered expression of the components of the CD14/TLR complex on the peripheral leukocytes of patients with atopic dermatitis. *International Arch of Allergy and Immunology* 2007 (közlésre elfogadva)

Impakt faktor: 2,2

12. Szegedi A, **Irinyi B**, Gál M, Hunyadi J: A levocetirizin hatékonyságának vizsgálata krónikus urticariás betegeken. *Allergológia és Klinikai Immunológia* 2007; 10: 34-39.

Összesített impakt faktor: 20,3

Összes hivatkozások száma: 68