

**Egyetemi Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei**

**VASCULARIS, IMMUNOLÓGIAI ÉS GENETIKAI TÉNYEZŐK  
LEHETSÉGES PATOGENETIKAI SZEREPE NÉHÁNY  
GASZTROENTEROLÓGIAI KÓRKÉPBEN**

**DR. PAPP MÁRIA**

**Témavezetők:**

**Prof. Dr. Udvardy Miklós**  
Egyetemi tanár

**Dr. Altorjay István**  
Habilitált egyetemi docens

**DEBRECENI EGYETEM  
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM  
BELGYÓGYÁSZATI INTÉZET  
GASZTROENTEROLÓGIAI TANSZÉK**

**DEBRECEN  
2008**

## 1. Bevezetés

A coeliakia különféle szervrendszereket érintő krónikus gyulladásos megbetegedés, autoimmun komponensekkel. A betegség genetikailag fogékony egyénekben a kalászos gabonafélékkel fogyasztott glutén-típusú fehérjék gliadin komponensének hatására alakul ki, és bármely életkorban jelentkezhet. A betegség manifesztálódásához a fő hisztokompatibilitási génekben (MHC II) a humán leukocita antigén (HLA)-DQ2 vagy DQ8 heterodimer jelenléte mindenképpen szükséges, hordozásuk azonban önmagában nem elegendő, más, nem HLA-asszociált gének is szerepet játszhatnak. A coeliakia gyakori, az európai és észak-amerikai lakosság mintegy 1%-át érinti, klinikai megjelenését tekintve rendkívül változatos kórkép, a befolyásoló faktorok jelentős része azonban ismeretlen.

A gyulladásos bélbetegségek (IBD) ismeretlen eredetű, a gasztrointesztinális traktust érintő, változatos extraintesztinális tünetekkel járó krónikus megbetegedések. Elsősorban a fiatal felnőtt korosztályokat érintik. Kialakulásukat az eltérő genetikai háttér és a különböző környezeti tényezők együttesen határozzák meg. Előfordulási gyakoriságuk világszerte növekszik, elsősorban az eddig alacsony incidenciájú területeken, mint például Kelet-Európában, köztük hazánkban is. Továbbá a colitis ulcerosa és Crohn-betegség korábbi 4-5:1-es aránya is közeledik egymáshoz. Hazánkban az eddigi eredmények colitis ulcerosában 11, Crohn-betegségben 4-5/ 100 000 lakos-év közötti incidenciát mutatnak. A Crohn-betegség klinikai megjelenésében és lokalizációjában, valamint az extraintesztinális tünetek kialakulásában kifejezett heterogenitás tapasztalható, továbbá a betegség viselkedése és a kezelésre adott válasz, úgy Crohn-betegségben, mint colitis ulcerosában egyaránt igen eltérő lehet.

A haptoglobin (Hp) jelentős antioxidáns tulajdonságokkal rendelkező akut fázis fehérje, melynek fő feladata a sejtek számára toxikus szabad hemoglobin megkötése. A Hp ugyanakkor az extravascularis szövetekben és a testfolyadékokban is direkt angiogenetikus, anti-inflammatorikus és immunmoduláns tulajdonságokkal rendelkezik. Egyrészt átjut az érfalon, másrészt bizonyos stimulusok hatására egyes szövetekben expresszálódhat is. Továbbá a Hp a neutrofil granulocytákból a gyulladás helyén lokálisan is felszabadul, és csökkenti a szövetkárosodást. Haptoglobin receptorok találhatók a monocyta-makrofág sejteken (CD163), ill. granulocytákon, természetes öltősejteken és a lymphocyták bizonyos szubpopulációjának [CD11b (CR3)] felszínén. A Hp molekulák ugyanakkor kötődnek a CD4+ és CD8+ T lymphocytákhoz is és befolyásolják azok proliferációját és ezáltal a T helper (Th)1/Th2 egyensúlyt.

A Hp molekula polimorfizmusát az  $\alpha$ -láncot kódoló gén (16q22) két kodomináns allélja – Hp1 és Hp2 – határozza meg. Következésképp a molekula genetikai polimorfizmusa három fő fenotípusban nyilvánul meg. A Hp1 génre

homozigóta egyének esetén létrejövő Hp1-1 molekula, két  $\alpha 1\beta$  alegységből álló kis homodimer. A Hp2 génre homozigóta egyékekben nagy molsúlyú ciklikus polimerek alakulnak ki. Az így képződő Hp2-2 molekula valójában ezen változó számú  $\alpha 2\beta$  alegységből álló ciklikus polimerek keveréke. A Hp génre heterozigóta egyékekben szintetizálódó Hp2-1 molekula szerkezete teljesen eltér a Hp1 és Hp2 génre homozigóta egyékekben képződő molekulákétól. A Hp2-1 szintén egy polimer keverék, azonban ezt a molekulát két  $\alpha 1\beta$  alegysége között különböző számú  $\alpha 2\beta$  alegységből kialakuló lineáris polimerek alkotják. Az eltérő fenotípusú Hp molekulák különböző mértékű antioxidáns, scavenger, és immunmoduláns tulajdonsággal rendelkeznek, és ezek kapcsolatot mutatnak egyes gyulladásos és autoimmun betegségek lefolyásával.

Gyulladásos bélbetegségekben különféle autoantigének, valamint mikrobiális alkotórészek ellen képződnek antitestek. Leggyakrabban a *Saccharomyces cerevisiae* elleni antitesteket (ASCA) és az atípusos perinukleáris antineutrofil citoplazmatikus antitestet (P-ANCA) vizsgálták, de egyre több adat áll rendelkezésre az újabban felfedezett, különféle mikrobiális antigének ellen termelődő antitestekről is. Ilyenek pl. az *Escherichia coli* külső membrán porin C ellenes antitest (anti-OmpC), *Pseudomonas fluorescens* ellenes antitest (anti-I2), flaggellin ellenes antitest (anti-CBir1) valamint a különféle glikán ellenes antitestek. A különféle mikrobiális- és autoantigének ellen termelődő antitestek pontos mechanizmusa és jelentősége azonban nem tisztázott. Alapvető kérdésnek tűnik, hogy az antitesteknek van-e szerepük az IBD immunpatogenezisében vagy megjelenésük csupán a gyulladt, áteresztő bélnyálkahártya következményének tartható.

Az IBD1 régióban található nucleotid oligomerisatio domain/caspase recruitment domain (NOD2/CARD15) gén mutációinak és a Crohn-betegség kapcsolatának felfedezése, melyet számos, köztük magyar beteganyagon is sikerült igazolni, hívta fel a figyelmet arra, hogy a betegség patogenezisében kulcsfontosságú szerepet játszik az innate immunitás szabályozásának megváltozása. A gén terméke egy citoszolikus mintázatfelismerő receptor (pattern recognition receptor), mely a Gram-negatív és -pozitív baktériumokból származó bakteriális termékek, mint a lipopoliszacharidok (LPS) és peptidoglikánok intracelluláris felismerésért felelős. A receptorok egy másik fontos családja, a sejtfelszíni toll-like receptorok (TLR), melyek szintén a bakteriális termékek érzékelésében vesznek részt. Közülük a TLR4 szükséges a LPS felismeréséhez. A genetikai és a szerológia markerek közötti lehetséges összefüggést az is alátámasztja, hogy a NOD2/CARD15 variáns allélok fokozott bélpermeabilitást okoznak, a szerológiai markerek szintje pedig a bélpermeabilitás fokozódásával emelkedik. Ugyanakkor Crohn-betegségben az ASCA és a NOD2/CARD15 közötti kapcsolatot vizsgáló tanulmányok eredményei ellentmondásosak, melyek legalábbis részben tükrözik a betegpopulációk között észlelt klinikai és genetikai különbözőséget.

## 2. Célkitűzések

A haptoglobin (Hp) molekula  $\alpha$ -láncát kódoló gén két allélja – Hp1 és Hp2 – következtében létrejövő három különböző fenotípusú Hp molekula térszerkezete eltérő és különböző mértékű antioxidáns, scavenger és immunmoduláns tulajdonságokkal rendelkeznek, melynek révén kapcsolatot mutatnak egyes gyulladásos betegségek prevalenciájával és lefolyásával.

- A coeliakia gyakori, genetikailag meghatározott, klinikai megjelenését tekintve rendkívül változatos kórkép, mely számos szervrendszert érinthet, a befolyásoló faktorok jelentős része azonban ismeretlen. Az irodalomban a Hp polimorfizmus és a coeliakia kapcsolatát vizsgáló nagy esetszámú tanulmány nem ismert. Munkánkban ezért célul tűztük ki, hogy nagyszámú, egymással rokonságban nem álló, a tünetek teljes spektrumát reprezentáló coeliakiás betegcsoportban megvizsgáljuk a Hp fenotípusok megoszlását, valamint azok lehetséges kapcsolatát a betegség klinikai megjelenésével. Vizsgáltuk továbbá coeliakiában a nagy rizikójú HLA-DQ genotípusok prevalenciáját a három különböző Hp fenotípusú csoportban.
- A Crohn-betegség növekvő incidenciájával párhuzamosan a betegség klinikai megjelenésében, lefolyásában, valamint az extraintesztinális tünetek kialakulásában kifejezett heterogenitás észlelhető, amit elsősorban a változatos genetikai háttér magyarázhat. Az irodalomban a Hp polimorfizmus és a Crohn-betegség kapcsolatát vizsgáló, nagy esetszámú tanulmány nem ismert. Választ kerestünk ezért arra a kérdésre, hogy a Hp polimorfizmus kapcsolatba hozható-e a Crohn-betegség kialakulásával, annak extraintesztinális manifesztációival, a betegség klinikai megjelenési formáival és a kezelésre adott válasszal. Vizsgáltuk továbbá a Hp kapcsolatát más genetikai tényezőkkel is, mint pl. a NOD2/CARD15 mutációkkal illetőleg a TLR4 D299G polimorfizmussal.

Gyulladásos bélbetegségekben különféle mikrobiális- és autoantigének ellen képződhetnek antitestek, melyek jól használhatóak a betegség differenciál diagnosztikájában, ugyanakkor az antitestképződés pontos mechanizmusa és jelentősége egyelőre nem tisztázott. Újabb vizsgálatok adatai szerint a szerológiai markerek jelenléte esetén a betegség agresszívebb lefolyású. Az antitestek prevalenciáját tekintve azonban jelentős földrajzi eltérésekről számoltak be. Felmerül továbbá a szerológiai és a genetikai markerek közötti lehetséges összefüggés, azonban a tanulmányok eredményei ellentmondásosak.

- Kelet Európából a szerológiai markerek vonatkozásában csak szórványosan állnak adatok rendelkezésre, ezért tartottuk fontosnak, hogy nagyszámú magyar IBD betegen vizsgáljuk az anti-*Saccharomyces cerevisiae* antitestek (ASCA), a külső membrán porin elleni antitest (anti-Omp) és az atípusos perinukleáris antineutrofil citoplazmatikus antitest (P-ANCA) előfordulását és azok esetleges összefüggését a betegség klinikai megjelenési formáival, a kezelésre adott válasszal és az extraintesztinális szövődményekkel. Vizsgáltuk továbbá a szerológiai válasz és a genetikai faktorok (NOD2/CARD15 és TLR4) kapcsolatát.
- Eltérően a különböző szisztémás kísér vasculitisekben jelenlévő klasszikus ANCA-tól, az IBD-hez társuló ANCA mintázatok azonosítására és interpretálására, nincs egyértelmű, nemzetközileg elfogadott ajánlás. Így célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk az irodalomban javasolt, de eddig széles körben még nem vizsgált módszer és kritériumrendszer kivitelezhetőségét és reprodukálhatóságát rutin laboratóriumi körülmények között elérhető tesztek és eszközök segítségével. Az *inter-assay* és *inter-observer* vizsgálatok során négy különböző, kereskedelmi forgalomban elérhető, etanol-és formalin-fixált neutrofil szubsztrátot egyaránt tartalmazó, indirekt immunfluoreszcens teszt eredményeit hasonlítottuk össze két földrajzilag különböző laboratóriumban. A fluoreszcens mintázatok mellett továbbá vizsgáltuk az antinukleáris antitest (ANA) jelenlétét és a mieloperoxidáz (MPO), proteináz-3 (PR3), elasztáz, laktoferrin, katepsin G, lizozim illetőleg baktericid permeabilitást fokozó protein (BPI) antigének elleni antitest szinteket.

### 3. Módszerek

#### Haptoglobin fenotípus/genotípus analízis

A Hp fenotípusok szérumból gélelektroforézissel biztonsággal meghatározhatóak, és egyértelműen azonosítják az egyén genotípusát is. A különböző betegcsoportok és kontroll egyének esetén a Hp fenotípus meghatározás szérumból történt röviden az alábbiak szerint: nátrium-dodecilszulfát poliakrilamid 5-10%-os lineáris gradiens gél elektroforézist (SDS-PAGE) követően polivinilidén-difluorid (PVDF) immobilion-P transfer membránra (Millipore, Bedford, MA) elektrotranszferrel átvittük (blottoltuk) a fehérjét. A detektálást Hp ellenes antitest (1:1000) (Polyclonal Rabbit Anti-Human Haptoglobin [Dako, Glostrup, Denmark]) és peroxidáz jelzett második antitest (1:2000) (Goat Anti-Rabbit-HRP, Dako), valamint diaminobenzidin

[DAB] oldatok felhasználásával végeztük. A genotípusokat minden vizsgálat során 1-1 és 2-2 típusú gyári Hp standardok (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Germany) felhasználásával állapítottuk meg.

A különböző Hp fenotípusok elektroforetikus mobilitásuk és sávmintázatuk alapján könnyen elkülöníthetőek.

### Statisztikai analízis

A Hp polimorfizmus vizsgálatok esetén a normalitás vizsgálatot Shapiro Wilk's W test segítségével végeztük. A különböző beteg és kontroll csoportok, valamint az adott betegség esetén az alcsoportok adatainak összehasonlítására T-próbát különböző varianciájú csoportokra, Fischer-exact-tesztet, illetőleg  $\chi^2$ -próbát alkalmaztunk helyenként Yates-korrektúrával, esélyhányadost (odds ratiót [OR]) határoztunk meg 95% konfidencia intervallummal (95% CI). A  $p < 0,05$  értéket tekintettük szignifikánsnak. Az adatokat SPSS13.0 programmal (SPSS Inc, Chicago, IL, USA), statisztikusok segítségével (Dr. Vargha Péter és Dr. Dinya Elek) értékeltük.

### Antimikrobiális antitest vizsgálatok

Az ASCA IgG és IgA, valamint anti-Omp IgA antitest meghatározásokat szérumból végeztük enzimvel kapcsolt immunosorbens assay-vel (ELISA) (QUANTA Lite, INOVA Diagnostics, San Diego, CA, USA). Mind az ASCA IgG és IgA, mind pedig az anti-Omp IgA antitest meghatározások a gyártó előírásai szerint történtek. Egy adott típusú vizsgálat esetén minden minta tesztelésére kétszer került sor, ugyanazon a lemezen. Az eredményeket önkényes egységben a gyártó által megadott egyenlet segítségével fejeztük ki, pozitív cut-off értéknek  $\geq 25$  egységet tekintettük.

### Anti-neutrofil citoplazmatikus antitest (ANCA) meghatározás

Az ANCA jelenlétét szérumból mintákban indirekt immunfluoreszcens (IIF) módszerrel vizsgáltuk. A szérumok tesztelését etanol- és a formalin-fixált humán perifériás neutrofil granulocita preparátumokon párhuzamosan végeztük.

Az összehasonlító ANCA vizsgálatokhoz négy különféle ANCA assay-t használtunk (Nova Lite ANCA, INOVA Diagnostics, San Diego, CA, USA; ImmuGlo, IMMCO Diagnostics, Inc., Buffalo, NY; Granulocyte Mosaic Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Germany és ANCA Test System Immunoconcepts N.A. Ltd., Sacramento, CA). A meghatározások minden esetben ugyanazon mintából származó aliquotokból történtek. A szérummintákat az etanol- és a formalin fixált neutrofil szubsztrát lemezek esetén is a gyártók előírásai szerint 1:40 (INOVA), 1:20 (IMMCO és Immunoconcepts) és 1:10 (Euroimmun) hígításokban vittük fel. A mintázatok

leolvasása IIF mikroszkóppal (Regionális Immunológiai Laborban: Eurostar Plus microscope, Euroimmun Medizinische Labordiagnostika, Luebeck, Germany; INOVA Diagnostics-ban: Nikon Eclipse E200 Labphot-2 indirect immunofluorescence microscope, San Diego, CA) 400-szoros nagyítás mellett történt. Az *inter-assay variabilitás vizsgálat* során a fent említett négy immunfluoreszcens ANCA assay-ben kapott mintázatokat egy vizsgáló értékelte. Az *inter-observer* variabilitás vizsgálat során ezzel szemben csak egy assay-t használtuk (Nova Lite ANCA), a vizsgálatok azonban egyidejűleg földrajzilag különböző laboratóriumokban (Regionális Immunológiai Laboratórium, Debreceni Egyetem OEC, Debrecen és INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, CA) történtek.

Az immunfluoreszcens eredmények értékelése az ANCA mintázatoknak az etanol- és formalin fixált szubsztárokon történő együttes viselkedése alapján történt. Az alábbi mintázatok kerültek leírásra: citoplazmatikus (C-ANCA), típusos perinukleáris (P)-ANCA, valamint atípusos P-ANCA. Az ANCA Konszenzus Nyilatkozat által említett negyedik féle ANCA mintázat (atípusos C-ANCA) a vizsgált beteganyagban nem fordult elő.

Az *ANCA antigén-specifitási vizsgálatokat* kereskedelmi forgalomban elérhető kitek segítségével (Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Germany) végeztük. Az MPO, PR3, laktoferrin, BPI, katepsin G, elasztáz és lizozim elleni IgG típusú antitestek jelenlétének kimutatása ELISA-val történt. Az egyes antitestek jelenlétét külön-külön, a gyártó által megadottak szerint határoztuk meg. Az anti-laktoferrin, anti-BPI, anti-katepszin G, anti-elasztáz és az anti-lizozim antitestek esetén az eredményeket pozitív vagy negatív formában adtuk meg, míg az anti-MPO és anti-PR3 antitestek esetén a kvalitatív eredmények mellett, azokat abszolút értékekben is megadtuk. Az eredményeket önkényes egységben a gyártó által megadott egyenlet segítségével fejeztük ki, pozitív cut-off értéknek  $\geq 5$  egységet tekintettük.

#### Anti-nukleáris antitest (ANA) meghatározás

Az anti-nukleáris antitest meghatározásokat HEp-2 sejteken (ANA-Hep-2) 1:40 arányban hígított szérum mintákból, IIF módszerrel (ImmuGlo, IMMCO Diagnostics, Inc., Buffalo, NY) végeztük. Az eredményeket IIF mikroszkópban 400-szoros nagyítás mellett értékeltük.

#### Coeliakia specifikus autoantitestek meghatározása (endomysium [EMA] és transzglutamináz elleni [anti-TG] antitest)

Az IgA és IgG osztályú EMA vizsgálatok humán köldökzsinór szubsztráton IIF módszerrel történtek. Az *anti-TG antitest* meghatározást *Eschericia coli*-ban expresszált humán rekombináns antigén felhasználásával ELISA-val végeztük.

## Genetikai vizsgáló eljárások

A genetikai vizsgálatokat a betegeknél már korábban elvégezték. Teljes vérből történő DNS szeparálást követően a *TLR4 D299G* polimorfizmust polimeráz láncreakció/ restrikciós fragmens hossz polimorfizmus (PCR-RFLP) segítségével határozták meg. A *NOD2/CARD15* esetén a lehetséges mutációkat (single nucleotide polymorphism [SNP] 8, SNP12 és SNP13) denaturáló nagyteljesítő-képességű folyadék kromatográfia (DHPLC) segítségével vizsgálták és direkt szekvenálással bizonyították. A *HLA DQ allélok* meghatározása szekvenciaspecifikus primerek felhasználásával, PCR segítségével történt.

## Statisztikai analízis

A szerológiai vizsgálatok esetén a normalitás vizsgálatot Shapiro Wilk's W test segítségével végeztük. Az IBD betegek és a kontrollok, valamint az egyes IBD alcsoportok adatainak összehasonlítására T-próbát különböző varianciájú csoportokra, Fischer-exact-tesztet, illetőleg  $\chi^2$ -próbát alkalmaztunk helyenként Yates-korrekcióval, OR-t határoztunk meg 95% CI-vel. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük szignifikánsnak. Az atípusos P-ANCA, ASCA és a két antitest kombinációjának esetén is szenzitivitást, specificitást, pozitív prediktív értéket (PPV) és negatív prediktív értéket (NPV) számoltunk, hogy meghatározzuk az adott antitestek és azok kombinációjának prediktív értékét a colitis ulcerosa, Crohn-betegség, izolált colon lokalizációjú Crohn-betegség és a kontroll csoport elkülönítésében. Amennyiben szükséges volt, meghatároztuk a prevalenciát, és használtuk a számításokban. A genetikai és klinikai adatok összehasonlítására logisztikus regressziót alkalmaztunk, az eredményeket OR és 95% CI formájában fejeztük ki. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük szignifikánsnak.

## Betegek kiválasztása

### *Hp polimorfizmus vizsgálatához*

I. tanulmány: A vizsgálatban 712 egymással rokonságban nem álló *coeliakiás beteg* vett részt (357 gyerek és 355 felnőtt, medián életkor: 17 év [tartomány: 2-85], medián életkor a diagnóziskor: 7 év [tartomány: 1-85], férfi/nő arány: 234/478). A coeliakia diagnózisát a vékonybélbiopsiás mintában észlelt crypta hyperplasiával járó súlyos boholyatrófia (Marsh III típusú lézió) és az emelkedett anti-TG elleni antitest szint és /vagy EMA jelenléte alapján állítottuk fel. Azokat a betegeket, akiknél nem állt rendelkezésre szerológiai vizsgálati eredmény, csak akkor vontuk be a vizsgálatba, ha a diagnózist a klasszikus glutén terheléses teszt és a HLA-DQ2 vagy DQ8 haplotípusok jelenléte is megerősítette. A dermatitis herpetiformist akkor tekintettük bizonyítottnak, ha a



bőr direkt immunfluorescens vizsgálata a bőr papilláiban IgA depozitumokat mutatott. A betegeket a diagnózis felállításakor a klinikai adatok, a laboreredmények [-2SD életkornak megfelelő] és a növekedési görbék [-2SD életkornak megfelelő] alapján prospektív módon a betegség klinikai megjelenési formája szerint csoportokba soroltuk. A betegek 32,9%-ában a diagnózis generalizált malabszorpció vagy fejlődésbeni visszamaradás, 22,8%-ában általános leromlást nem okozó gasztrointesztinális tünetek, 9,4%-ában vashiányos anémia, 15,6%-ában dermatitis herpetiformis, 12,1%-ában egyéb tünet miatt került felállításra. A betegek 7,2%-ában a betegség silent formája szűrés folytán derült ki.

II. vizsgálat: A vizsgálatban 511 egymással rokonságban nem álló *IBD* beteget (Crohn-betegség: 468, életkor:  $36,5 \pm 12,7$ , férfi/nő arány: 233/235, betegségtartam:  $8,2 \pm 6,7$  év és colitis ulcerosa: 43, életkor:  $38,7 \pm 15,7$  év, férfi/nő: 22/21, betegségtartam:  $9,6 \pm 10,6$  év) vizsgáltunk. Az *IBD* diagnózisának felállítása a Lennard-Jones által leírt (klinikai, endoszkópos, radiológiai és kórszövettani) kritériumok alapján történt. A betegek adatainak rögzítését a gondozó gasztroenterológus szakorvos végezte előre elkészített kérdőív kitöltésével, mely tartalmazta a beteg nemét, az aktuális és a betegség felismeréskori életkort, az extraintesztinális tünetek jelentkezését (arthrititis: perifériás, axiális; szemészeti szövődmények: conjunctivitis, uveitis, iridocyclitis; bőrelváltozások: erythema nodosum, pyoderma gangrenosum; májszövődmények: primer szklerotizáló cholangitis [PSC]; a relapszusok gyakoriságát (gyakori relapszus:  $>1/\text{év}$ ), a gyógyszeres kezelés hatékonyságát (szteroid és/vagy immunszuppresszív szerek alkalmazásának szükségessége, szteroid-rezisztencia az ECCO [European Crohn's and Colitis Organisation] Konszenzus Report alapján, vagy az infliximab kezelésre adott rövid-távú válasz), a sebészeti beavatkozás szükségességét (reszekciós műtétek), a családi *IBD* előfordulást és a dohányzási szokásokat. Továbbá a perianális szövődmény jelentkezését is rögzítettük. A betegség klinikai osztályozását (betegség felismeréskori életkor, a betegség lokalizációja, viselkedése) a bécsi klasszifikáció szerint végeztük ( $\leq 40$  év [A1],  $>40$  év [A2]; terminális ileum [L1], colon [L2], ileocolicus [L3], felső tápcsatornai [L4] érintettség; gyulladásos [nem stenotizáló, nem penetráló] [B1], stenotizáló [B2] vagy penetráló [B3] betegségforma). Colitis ulcerosa esetén a betegség kiterjedést a követési idő alatt észlelt legnagyobb kiterjedés alapján határoztuk meg. A betegség lefolyását krónikus kontinuusnak tekintettük, ha a relapszusok száma évente  $>1$ . A tanulmányba történő bevonás feltétele volt, hogy a végleges diagnózis felállításától legalább egy év elteltjen, a beteg folyamatos ellenőrzés alatt álljon és két évnél ne legyen régebbi a tápcsatorna endoszkópos és szövettani vizsgálata.

A kontroll csoport 384 egészség egyénből állt (medián életkor: 38 év [tartomány: 17-69], férfi/nő arány: 192/192). A kontroll egyének esetén részletes

belgyógyászati fizikális vizsgálat, vérnyomásmérés és rutin laboratóriumi vizsgálatok történtek az esetleges rejtett betegségek kizárására.

#### Szerológiai vizsgálatokhoz

A vizsgálatban 653, egymással rokonságban nem álló *IBD* beteget (Crohn-beteg: 558, férfi/nő arány: 263/295, életkor:  $36,3 \pm 12,6$  év, betegségstartam:  $8,1 \pm 10,7$  év és colitis ulcerosás: 95, férfi/nő arány: 44/51, életkor:  $39,7 \pm 14,5$  év betegségstartam:  $8,9 \pm 9,8$  év) és 100 korban- és nemben egyező *egészséges kontroll* egyént vizsgáltunk (férfi/nő arány: 47/53, életkor:  $36,6 \pm 9,1$  év). Az *IBD* diagnózisának felállítása a fentiekben ismertetett módon történt.

Az összehasonlító ANCA vizsgálatokhoz 108 Crohn-beteg és 96 colitis ulcerosás beteg szérumát használtuk fel.

## **4. Eredmények**

### **Haptoglobin polimorfizmus: új genetikai kockázati tényező a coeliakia kialakulásában és klinikai megjelenési formáiban**

A coeliakiás betegekben a *Hp2-1* típus előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt (56,9%), mint az egészséges populációban (46,1%, OR: 1,54, 95%CI: 1,20-1,98;  $p=0,0006$ ). Az egészséges kontroll populáció *Hp* fenotípus megoszlása (*Hp1-1*: 11,5%, *Hp2-1*: 46,1%, *Hp2-2*: 42,4%) megegyezett a korábbi, mintegy 25439 magyar egyént magába foglaló populációs szintű felmérés adataival és a nem, valamint az életkor nem befolyásolta. A *Hp1* és *Hp2* allélok a kontroll csoportban megfeleltek a Hardy-Weinberg egyensúlynak.

A coeliakiás betegek– akiknél a HLA eredmények rendelkezésre álltak ( $n=228$ ) – mindegyike, legalább egy *DQ2* vagy *DQ8* allélt hordozott; a magas rizikóval járó *DQ* genotípusok előfordulási aránya (*DQB1\*0201/\*0201* [*DR3;DQ2/DR3;DQ2*] vagy *DQB1\*0201/\*0202* [*DR3;DQ2/DR7;DQ2*]) a három különböző *Hp* típus esetén azonos volt (*Hp1-1*: 40,0%, *Hp2-1*: 40,7%, *Hp2-2*: 38,8%), mely azt mutatja, hogy a HLA-asszociált hajlamosító tényezők előfordulása nem volt gyakoribb a *Hp2-1*-es coeliakiás csoportban. A kontroll csoport esetén HLA-DQ vizsgálatokat nem végeztünk.

A betegség klinikai megjelenési formáinak eltérő megoszlását észleltük a három különböző *Hp* genotípusú csoportban. A *Hp2-2*-t hordozó személyeknél a súlyos, malabszorpcióval vagy fejlődésbeni visszamaradással jelentkező klinikai betegség kockázata magasabb volt (OR: 2,21 95%CI: 1,60-3,07), míg a nem-specifikus vagy enyhe gasztrointesztinális tünetekkel járó forma (OR: 0,38, 95%CI: 0,25-0,58) vagy a silent betegség jóval ritkábban fordultak elő (OR: 0,35 95%CI: 0,16-0,76) a másik kétféle *Hp*-t hordozó csoporthoz képest. Az összes *Hp2-2* típusú coeliakiás beteg közül a betegség klinikai megjelenése

44,9%-ában volt malabszorpció vagy fejlődésbeni visszamaradás; ez szignifikánsabb gyakoribb volt, mint a teljes coeliakiás csoportban (32,9%,  $p=0,0008$ ) vagy a másik két Hp fenotípusú csoportban (26,9%,  $p<0,0001$ ). Hasonlóképpen, az összes malabszorpcióval vagy fejlődésbeni visszamaradással diagnosztizált coeliakiás beteg 45,3%-a volt Hp2-2 fenotípusú, annak ellenére, hogy a Hp2-2 fenotípus előfordulása coeliakiában alacsonyabb volt, mint az egészségesek között ( $p=0,0023$ ).

A nem-specifikus vagy enyhe gasztrointesztinális tünetekkel jelentkező betegekben és a szűréssel felfedezett esetekben erős Hp2-1 túlsúly volt észlelhető (69,1% és 72,5%) a teljes coeliakiás csoporthoz képest (56,9%) ( $p=0,0004$  és  $p=0,0192$ ), míg a Hp2-2 előfordulása jóval ritkább volt.

A dermatitis herpetiformis előfordulás gyakoribb volt a Hp1-1 csoportban (22,5%) a másik két Hp csoporthoz (14,8%;  $p=0,118$ ) és a teljes coeliakiás csoporthoz (15,6%;  $p=0,131$ ) hasonlítva, a különbségek azonban nem bizonyult szignifikánsnak. A dermatitis herpetiformis betegek mindössze 14,4%-a volt Hp1-1 típusú, míg a nagytöbbségük szintén a Hp2-1 csoportba tartozott.

A vashiányos anémia és az egyéb klinikai megjelenési formák előfordulási aránya a három különböző Hp fenotípusú csoportban azonos volt, továbbá megoszlásuk a teljes coeliakiás csoporttól sem tért el.

Nem volt összefüggés a Hp fenotípusok és a diagnóziskori életkor között. Továbbá a férfi/női arány is megegyezett a három különböző Hp csoportban.

### **Haptoglobulin polimorfizmus kapcsolata a Crohn-betegség viselkedésével és extraintesztinális manifesztációival**

Crohn-betegségben a Hp1 allél szignifikánsan gyakrabban fordult elő a kontroll egyénekhez képest (0,395 vs. 0,345; OR: 1,24, 95% CI: 1,02-1,51,  $p=0,03$ ), a Hp fenotípus megoszlás azonban nem különbözött a vizsgált IBD csoportokban a kontroll populációtól.

A Hp polimorfizmus nem mutatott összefüggést Crohn-betegségben sem a betegség kezdete kori életkorral, sem a betegség fennállásának időtartamával, sem pedig a családi IBD gyakorisággal. Nem volt hatással a betegség lokalizációjára. A Hp fenotípusok és a perianális manifesztáció között sem volt összefüggés kimutatható.

A betegség viselkedése azonban kapcsolatban állt a Hp polimorfizmussal: a 2-1 fenotípus esetén a gyulladásos (nem stenotizáló, nem penetráló) forma [B1] előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt (44,9%) a másik két Hp fenotípushoz viszonyítva (1-1: 36,6%, 2-2: 34,3%) (OR<sub>B1Hp2-1</sub> vs egyéb: 2.06, 95%CI: 1.29-3.28), míg a stenotizáló forma [B2] előfordulása ritkább (2-1: 20,3%, 1-1: 32,4%, 2-2: 32,5%;  $p=0,04$ ). A penetráló [B3] forma előfordulása mindhárom fenotípus esetén azonos volt (1-1: 29,6%, 2-1: 34,8% 2-2: 32,5%). A relapszusok gyakorisága nem különbözött a fenotípusok alapján.

Az extraintesztinális manifesztációk közül a PSC vonatkozásában jelentős különbséget találtunk a különféle Hp fenotípusok esetén. A 18 PSC-s betegből egyetlen esetben sem fordult elő *I-I* Hp fenotípus. Ezen megfigyelésünket egy nagyobb számú PSC betegcsoportban is meg tudtuk erősíteni (n=63) (Hp1-1: 0%, Hp2-1: 52,4%, Hp2-2: 47,6%,  $OR_{Hp1-1 \text{ vs. egyéb}} = 0,06$ , 95%CI: 0,003-0,99,  $p=0,0012$ ).

Crohn-betegségben a Hp polimorfizmus nem mutatott kapcsolatot, a szteroid- és az azathioprin-kezelés sajátosságaival illetőleg a sebészeti beavatkozásokkal.

Nem volt összefüggés a Hp fenotípusok és a TLR4 D299G polimorfizmus között sem. A NOD2/CARD15 gén LRR régiójában lévő három fő mutáció közül a SNP 12 az *I-I* fenotípus esetén szignifikánsabban gyakrabban fordult elő (14,3% [9/63]), mint a másik két fenotípus esetén (2-1: 3,6% [7/186], 2-2: 6,1% [9/138]) ( $p=0,025$ ), az SNP 8 és 13-al nem találtunk kapcsolatot.

**A mikrobiális antigének elleni szerológiai válasz Crohn-betegségben összefügg a vékonybél érintettséggel, a nem-gyulladásos típusú betegség lefolyással és a NOD2/CARD15 genotípussal, de nem korrelál a gyógyszeres kezelésre adott válasszal és műtétek gyakoriságával**

*Szerológiai markerek előfordulási gyakorisága és klinikai haszna IBD-ben*

Az általunk vizsgált IBD betegpopulációban az anti-Omp, ASCA és atípusos P-ANCA antitestek 31,2%, 59,3% és 13,8%-ban voltak jelen a Crohn-betegek, 24,2%, 13,7% és 48,5% a colitis ulcerosás betegek, valamint 20%, 16% és 5,6%-ban a kontroll egyének szérumában. Az ASCA és anti-Omp antitestek jelenléte Crohn-betegség ( $OR_{ASCA}=7,65$ , 95%CI: 4,37-13,4;  $OR_{Omp}=1,81$ , 95%CI: 1,08-3,05), míg az atípusos P-ANCA pozitivitás colitis ulcerosa fokozott kockázatával járt ( $OR_{P-ANCA}=10,91$ , 95%CI: 4,34-27,41) a kontroll csoporthoz viszonyítva. Az atípusos P-ANCA és az ASCA pozitivitás gyakorisága colitis ulcerosa és Crohn-betegség esetén is szignifikánsan eltért egymástól. A Crohn-betegek 20,8% az ASCA IgA, ASCA IgG és anti-Omp antitestek mindegyikére pozitív volt, ezzel szemben a colitis ulcerosás betegekben (3,2%), valamint a kontroll egyékekben (1%) a hármas antitest pozitivitás ritka volt ( $p<0,0001$  mindkét esetben). Ugyanakkor a Crohn-betegek 35,1%-a nem mutatott reaktivitást sem az ASCA-val, sem pedig az Omp-val szemben.

A szerológiai markerek kombinációja (mint pl. P-ANCA+/ASCA-, P-ANCA-/ASCA+ vagy ASCA IgA és IgG együttes pozitivitás) elfogadható specificitást és pozitív prediktív értéket mutatott a kontroll csoport, a colitis ulcerosa és a Crohn-betegség elkülönítésében. A szerológiai markerek kombinációja még a colon lokalizációjú Crohn-betegséget (L2) és colitis

ulcerosát – mely a klinikai gyakorlatban leginkább jelenthet differenciál diagnosztikai problémát – is elfogadható módon tudta elkülöníteni (specifititás >90%, PPV>80%). A szerológiai markerek kombinációjának szenzitivitása ugyanakkor alacsonynak bizonyult.

#### *Szerológiai markerek kapcsolata az IBD fenotípusával és a műtéti kockázattal*

Crohn-betegségben univariációs analízist végezve összefüggést tudtunk kimutatni az anti-Omp pozitivitás, a betegség korábbi életkorban történő manifesztációja ( $p=0,025$ ), a hosszabb betegségfennállás ( $p=0,01$ ), a nem-gyulladásos ( $p<0,0001$ , OR: 2.89, 95%CI: 1.93-4.33) / penetráló betegségforma ( $p=0,001$ , OR: 1.84, 95%CI: 1.27-2.67), a szentünetek előfordulása ( $p=0,019$ , OR: 2,23, 95%CI: 1,16-4,30), az azathioprin használat ( $p=0,016$ , OR: 1,62, 95%CI: 1,10-2,41) és a sebészeti beavatkozás szükségessége ( $p<0,0001$ , OR: 2,26, 95%CI: 1,58-3,27) között. Az ASCA pozitivitás a betegség korábbi életkorban történő manifesztációja ( $p<0,0001$ ), a vékonybél érintettség ( $p<0,0001$ , OR: 2,51, 95%CI: 1,70-3,71), a nem-gyulladásos ( $p<0,0001$ , OR: 2,02, 95%CI: 1,43-2,86)/ penetráló betegségforma ( $p=0,004$ , OR: 1.73, 95% CI: 1.20-2.51), a perianalis érintettség ( $p=0,002$ , OR: 1,83, 95%CI: 1,25-2,70) és a sebészeti beavatkozás szükségessége ( $p=0,004$ , OR: 1,69, 95%CI: 1,19-2,40) szempontjából bizonyult rizikófaktornak.

A szerológiai markerek és a betegség viselkedése, a szentünetek, valamint a sebészeti beavatkozás szükségessége közötti összefüggést logisztikus regressziós analízisben is vizsgáltuk. Az anti-Omp és az ASCA független rizikófaktornak bizonyultak a nem-gyulladásos betegségforma szempontjából, míg az anti-Omp ( $B=0,38$ ,  $p=0,04$ , OR: 1,47, 95%CI: 1,01-2,13) és a női nem ( $B=1,11$ ,  $p=0,005$ , OR: 3,05, 95%CI: 1,41-6,62) a szentünetek kialakulásával mutatott összefüggést ugyanabban a modellben, mely a nem-gyulladásos betegségformát, mint független változót is tartalmazta. Ezzel szemben a sebészeti beavatkozás szükségességének előrejelzésében a hosszabb betegségfennállás, a vékonybél érintettség és nem-gyulladásos betegségforma bizonyultak független kockázati tényezőknek, míg a P-ANCA, ASCA vagy anti-Omp statusz nem.

Nem találtunk különbséget azonban a P-ANCA pozitív és negatív Crohn-betegek klinikai megjelenési formájában. Hasonlóképpen a szerológiai profil colitis ulcerosában sem mutatott összefüggést a klinikai képpel. Nem volt összefüggés továbbá a dohányzási szokások és a különböző mikrobiális antigénekkal szemben kialakuló szerológiai válasz között sem.

#### *Szerológiai markerek kapcsolata a NOD2/CARD15 genotípusokkal*

Az ASCA ( $p<0,0001$ , OR: 2,64, 95%CI: 1,71-4,10) és az anti-Omp ( $p=0,005$ , OR: 1,89, 95%CI: 1,24-2,90) antitestek jelenléte univariációs

analízisben összefüggést mutatott a NOD2/CARD15 genotípussal. Szerológiai gén-dózishatást is ki tudtunk mutatni, azaz antimikrobiális antitestek előfordulási gyakorisága szignifikánsan nőtt a NOD2/CARD15 mutációk számának növekedésével. Az ASCA pozitivitás 50,6%, 70,7% és 80% volt a 0, 1 vagy 2 variáns NOD2/CARD15 alléllal ( $p<0,0001$ ) rendelkező betegekben, míg az anti-Omp antitestek 24,5%, 37,4% és 42,5%-ban ( $p=0,007$ ) voltak jelen. A NOD2/CARD15 és ASCA ( $B=0,406$ ,  $p=0,001$ , OR: 1,50, 95%CI: 1,18-1,90) közötti összefüggés az antitest pozitivitást, a nemet, a betegség tartamot, a vékonybél érintettséget vagy csak a vékonybél betegséget, a nem-gyulladásos betegségformát és a dohányzást, mint független változókat tartalmazó logisztikus regressziós modellben is szignifikáns maradt, míg a NOD2/CARD15 és anti-Omp közötti összefüggés nem.

#### *Szerológiai válasz nagyságának a betegség fenotípusával való összefüggése*

Pozitív összefüggést tudtunk kimutatni az antitest-válaszok száma (ASCA és/vagy anti-Omp) és a vékonybél érintettség, a nem-gyulladásos betegségforma, valamint a sebészeti beavatkozás szükségessége között (szerológiai dózishatás), míg az izolált colon érintettség és az antitest pozitivitások száma között fordított összefüggést találtunk. Logisztikus regressziós modellben – mely magában foglalta a betegség tartamot, a nemet, a vékonybél érintettséget, a nem-gyulladásos betegség viselkedést és az aktuális dohányzást, mint független változókat – az antitest-válaszok száma független rizikófaktornak bizonyult a hosszabb betegség tartam ( $p<0,0001$ , OR 3,01, 95%CI: 1,91-4,72), a nem gyulladásos betegség viselkedés ( $p<0,0001$ , OR: 3,15, 95%CI: 2,46-4,03) és a vékonybél érintettség ( $p=0,001$ , OR: 2,38, 95%CI: 1,44-3,93) tekintetében, a sebészeti beavatkozás szükségességének ( $p=0,076$ ) előrejelzésében azonban nem.

#### *Az antimikrobiális antitest termelődés nagyságának és a betegség fenotípusának kapcsolata*

Az ASCA IgA, IgG és anti-Omp antitest szintek közötti különbségeket medián értékekben és kvartiliesekben is megadtuk. A logisztikus regressziós analízisben a fent említett változókat figyelembe véve az ASCA IgA, IgG és anti-Omp kvartilis antitest szintek független kockázati tényezőnek bizonyultak a nem-gyulladásos betegség viselkedést (ASCA IgA:  $p<0,0001$ , OR: 1,39, 95%CI: 1,18-1,62; ASCA IgG:  $p=0,03$ , OR: 1,28, 95%CI: 1,09-1,15; anti-Omp:  $p<0,0001$ , OR: 1,44, 95%CI: 1,23-1,70) és a sebészeti beavatkozás szükségességét (ASCA IgA:  $p=0,004$ , OR: 1,27, 95%CI: 1,08-1,49; ASCA IgG:  $p=0,003$ , OR: 1,30, 95%CI: 1,10-1,53; anti-Omp:  $p<0,0001$ , OR: 1,34, 95%CI: 1,14-1,58) illetően.

## **Etanol- és formalin-fixált neutrofil granulocita szubsztrátok együttes alkalmazásának vizsgálata az atípusos P-ANCA kimutatására IBD-ben: specificitás és reprodukálhatóság**

### *Inter-assay vizsgálat – Fluoreszcens mintázatok*

Az ANCA jelenlétét IBD betegek szérumában IIF mikroszkóp segítségével etanol- és formalin-fixált neutrofil szubsztrátokat egyaránt használva vizsgáltuk. A vizsgálat populációban az összes ANCA mintázat előfordulása a négyféle IIF assay-vel mérve 24,5% és 37,5% közötti volt: 39,6-53,1% colitis ulcerosásokban és 11,1-24,1% Crohn-betegekben.

Mind colitis ulcerosában, mind pedig Crohn-betegségben egy assay kivételével az ANCA mintázatok döntően atípusos P-ANCA-nak adódtak (az összes ANCA 68,4-76,3% ill. 71,4-90,0%). Az IMMCO assayben az ANCA mintázatoknak csak viszonylag kis százaléka volt atípusos P-ANCA (colitis ulcerosában az összes ANCA 17,6%-a, Crohn-betegségben 38,5%-a), míg a típusos P-ANCA előfordulása jóval magasabb volt (az összes ANCA 72,5% és 46,2%-a). A C-ANCA mintázat előfordulása mind a négy assayben alacsony volt.

A négy különböző módszerrel kapott eredmények közötti egyezés az egyes ANCA mintázatokra vonatkozóan a következők szerint alakult: atípusos P-ANCA: 73,6-88,0%, P-ANCA: 77,4-93,3% és C-ANCA 93,3-98,1%. A súlyozott Kappa értékek ( $\kappa$ ) azonban csak gyenge-közepes egyezésre utaltak ( $\kappa=0,14-0,34$  az atípusos P-ANCA-ra).

A különböző assay-vel kapott eredmények további vizsgálata és összehasonlítása az alábbi, általunk meghatározott kritériumrendszer szerint történt. A fluoreszcens mintázatot akkor tekintettük atípusos P-ANCA-nak, ha a négyből 3 assay-vel azonos eredményt kaptunk. Ezt mindössze 16 esetben (az összes beteg 7,8%-a) találtuk így, amely a különféle assay-ek eredményei között tapasztalható jelentős eltéréseket tükrözi. Amennyiben a típusos és atípusos P-ANCA mintázatokat összevontuk (a Konszenzus Ajánlásnak megfelelően, 41 betegnél kaptunk egyezést (az összes eset 20,1%-a). Ezek az adatok arra engednek következtetni, hogy a típusos- és az atípusos P-ANCA mintázat elkülönítésében a formalin-fixált lemezek használata nem hatékony és az eredmények javulnak, ha a típusos és az atípusos P-ANCA mintázatok nem választjuk külön egymástól. A fenti 41 esetből az INOVA, az IMMCO és az Euroimmun assay-k közel azonos arányban bizonyultak pozitívnak (92,7, 90,2% és 82,9%), míg az Immunoconcepts assay alábecsülte a P-ANCA pozitív minták arányát (58,5%). Ezért a további értékelésből az Immunoconcepts kittel kapott eredményeket kihagytuk, és új kritériumrendszert állítottunk fel a másik három assay adatai alapján. Eszerint akkor fogadtuk el az eredményeket egyezőnek, amennyiben 3 assay-ből 2 azonos mintázatot mutatott. Atípusos P-ANCA

vonatkozásában ez 28 (az összes beteg 13,7%-a), míg az összes P-ANCA mintázatra nézve 57 esetet (az összes beteg 27,9%-a) jelentett, 41 colitis ulcerosus (42,7%) és 16 Crohn-beteget (14,8%) ( $p < 0,0001$  a colitis ulcerosa és a Crohn-betegség között). Az össz-ANCA pozitivitás (25,5-34,8% a három fenti assay használatával, beleértve néhány C-ANCA mintázatot is) tekintetében elmondható, hogy a különféle P-ANCA mintázatokat együtt értékelve az esetek döntő többségében egyezést tudtunk kimutatni. A három különböző assay hasonló arányban talált azonos mintázatot (89,5, 87,7% és 71,9%).

### *Antigén specificitás*

Vizsgáltuk a neutrofil granulocyták különféle citoplazmatikus alkotórészeivel, például az MPO, PR3, laktoferrin, BPI, katepsin G, elasztáz és a lizozimmal reagáló IgG antitestek jelenlétét. Az MPO és PR3 elleni antitesteknek mind a szintjük, mind a gyakoriságuk alacsony volt. Az anti-PR3 antitest azonban gyakrabban volt jelen, mint az anti-MPO. Mind az anti-PR3, mind az anti-MPO colitis ulcerosában gyakoribb volt Crohn-betegséggel összehasonlítva (4,2% vs. 0,9%; n.s. és 16,7% vs. 3,7%;  $p = 0,002$ ). Továbbá (csak a pozitív eseteket vizsgálva) az anti-PR3 szintje is magasabb volt colitis ulcerosában, mint Crohn-betegségben (25,9 [IQR 15,8-38,1] vs. 9,6 [IQR 7,9-13,4]) n.s.). Egy colitis ulcerosás betegben anti-MPO és anti-PR3 antitestet egyaránt találtunk, míg 2 Crohn-betegben és 4 colitis ulcerosus betegnek a fenti antitestek valamelyikén túl laktoferrin és/vagy BPI elleni antitestje is volt. A 24 betegből, akikben anti-MPO és/vagy anti-PR3 antitestek változó mértékben voltak jelen, 21 (87,5%) mutatott valamilyen fokú immunfluoreszcenciát IMMCO lemezekon, míg 13-13 (54,2%) INOVA, Euroimmun és Immunoconcepts szubsztrátokon. Ha figyelmen kívül hagytuk azokat a mintákat, amelyek a cut-off értéknél kétszer kevesebb antitestet tartalmaztak, csupán 13 beteg esetében találtunk jelentős mennyiségű anti-MPO és anti-PR3 antitesteket (az összes beteg 6,4%-a), és ezek közül 8-10 volt IIF pozitív a különböző assay-vel vizsgálva.

Egyik csoportban sem találtunk katepsin G és elasztáz elleni antitesteket, és betegcsoportonként csupán 1 betegnek volt lizozim ellenes antitestje. Az anti-laktoferrin és anti-BPI antitestek előfordulási gyakorisága 10,4% vs. 4,6% és 10,4% vs. 7,4% volt colitis ulcerosában és Crohn-betegségben (n.s.). Egy Crohn-betegben és 3 colitis ulcerosus betegben mindkét antitest kimutatható volt, míg az anti-MPO és anti-PR3 6 betegben fordult elő együtt. A 31 betegből (az összes beteg 15,2%-a), akikben lizozim, laktoferrin és/vagy BPI elleni antitestek voltak jelen, 27-nél (87,1%) kaptunk pozitív IIF eredményeket az IMMCO lemezekon, és 20 (64,5%), 13 (41,9%) és 11 (35,5%) esetben INOVA, Euroimmun és Immunoconcepts szubsztrátokon. Az immunfluoreszcens mintázatok megoszlása változó volt az egyes módszereknél, P-ANCA, atípusos P-ANCA és C-ANCA egyaránt előfordult.



Az ELISA-val kapott eredményeket szintén elemeztük a klinikai fenotípus vonatkozásában. Nem találtunk szignifikáns különbséget a fenti antitestekkel rendelkező vagy nem rendelkező betegek között a nemet, életkort, diagnóziskori életkort és a betegség lokalizációját vagy lefolyását vizsgálva.

HEp-2-vel szembeni ANA pozitivitást IIF módszerrel vizsgálva a colitis ulcerosus betegek 17,7%, míg a Crohn-betegek 6,5%-ban figyeltünk meg.

### *Inter-observer vizsgálat*

Az *inter-observer* vizsgálatban ugyanazt a tesztet (Nova Lite ANCA, INOVA) használtuk két független laboratóriumban, az eredményeket pedig két különböző, tapasztalt vizsgáló értékelte. Colitis ulcerosusban az ANCA mintázatok előfordulási gyakoribb volt a San Diego-i laboratóriumban, mint a debreceniben (64,6% vs. 53,1%), ami jórészt a gyakoribb atípusos P-ANCA mintázatnak tulajdonítható (57,3% vs. 39,6%). Ezzel párhuzamosan a P-ANCA (5,2% vs. 9,4%) és C-ANCA (2,1% vs. 4,2%) valamivel ritkábban fordult elő. Crohn-betegekben a két vizsgáló gyakorlatilag azonos előfordulási gyakoriságot talált a különböző ANCA mintázatok esetében: 17,6% vs. 16,7% az atípusos P-ANCA-nál, 2,8% vs. 1,9% a P-ANCA-nál és 0,9% vs. 0,0% a C-ANCA-nál (összesen 21,3 vs. 18,5%). Az egész vizsgálati populációt tekintve az atípusos P-ANCA esetében az egyezés mértéke 75,5%, volt, ami 0,44-es  $\kappa$  értéknek, vagyis közepes vizsgálók közötti konkordanciának felel meg. P-ANCA és C-ANCA esetében a  $\kappa$  koefficiens nem került kiszámításra a nagyon alacsony előfordulási arány miatt.

A típusos és atípusos P-ANCA mintázatokot együtt értékelve, colitis ulcerosus és a Crohn-beteg csoportban a P-ANCA előfordulási gyakorisága 62,5% és 20,4% ( $p < 0,0001$ ) volt a san diego-i, illetve 49,0% és 18,6% ( $p < 0,0001$ ) a debreceni laboratóriumban. Az egyezés 77,9% volt, a vonatkozó  $\kappa$  érték a 0,53-re adódott. A colitis ulcerosus betegek között a P-ANCA szenzitivitása 62,5% (52,0-72,0%), a specificitása 79,6% (70,6-86,5%; 95% CI) volt a San Diego-i, illetve 49,0% (38,7-59,3%) és 81,5% (72,6-88,1%; 95% CI) a debreceni laboratóriumban mérve. A két labor között nem volt szignifikáns különbség a szenzitivitás és a specificitás tekintetében.

## 5. Főbb új tudományos eredmények

1. Munkánkban nagyszámú coeliakiás betegcsoportban vizsgáltuk a Hp polimorfizmus szerepét a betegség kialakulásában és annak klinikai megjelenésében. Az irodalomban elsőként számoltunk be arról, hogy coeliakiás betegekben a Hp2-1 típus előfordulása szignifikánsan gyakoribb az egészséges kontroll populációhoz képest. A HLA-asszociált hajlamosító tényezők előfordulása azonban nem mutatott kapcsolatot a Hp genotípussal.

2. Összefüggést találtunk továbbá a Hp fenotípusok és a coeliakia klinikai megjelenési formái között. A Hp2-2 fenotípus bár coeliakiában ritkábban fordult elő, súlyosabb klinikai forma kialakulásához vezetett. Ezzel szemben a Hp2-1 fenotípus esetén elsősorban a betegség enyhébb tünetek formájában történő jelentkezését észleltük. A tünetmentesen, szűrés kapcsán felfedezésre került esetek jelentős része is ebbe a fenotípusba tartozott. A korábbi, kis esetszámú irodalmi adattól eltérően, a saját beteganyagunkban a Hp fenotípusok megoszlása dermatitis herpetiformis esetén nem tért el a coeliakiás csoportban észlelttől.

3. Az általunk vizsgált nagy esetszámú magyar Crohn-beteg populációban a Hp1 allél előfordulását szignifikánsan gyakoribbnak találtuk, a Hp fenotípus megoszlás azonban nem tért el a kontroll populációban észlelttől. Crohn-betegekben a polimorfizmus kapcsolatba volt hozható a betegség lefolyásával: a Hp2-1 fenotípus esetén gyakoribbnak találtuk a betegség enyhébb tünetekkel járó gyulladásos formáját és ritkábbnak a szövődményes, stenoizáló formát. Primer szklerotizáló cholangitisben a Hp1-1 fenotípus egyáltalán nem fordult elő.

4. Munkánk során a kelet-európai régióból elsőként számoltunk be a szerológiai és a genetikai markerek közötti komplex összefüggésekről nagyszámú IBD beteganyagban. Az ASCA, az anti-OMP és atípusos P-ANCA antitestek előfordulási gyakorisága összhangban volt a korábbi észak-amerikai és nyugat-európai kaukázusi betegeket vizsgáló tanulmányok eredményeivel. A szerológiai markerek specifitása, szenzitivitása és PPV értékei is a korábbi vizsgálatokkal összhangban amellet szólnak, hogy a különféle markerek külön-külön nem használhatóak az IBD diagnosztikájában. A magas PPV érték mindazonáltal lehetővé teszi, hogy válogatott esetekben kiegészítő diagnosztikus vizsgálatként kerüljenek alkalmazásra.

5. Vizsgálatunkban a mikrobiális antigének elleni szerológiai válasz Crohn-betegségben összefüggést mutatott a betegség korai megjelenésével, a vékonybél érintettségével, és a nem-gyulladásos típusú betegség lefolyással, de nem korrelált sem a gyógyszeres kezelésre adott válasszal, sem pedig a műtétek gyakoriságával. Az eddigi irodalmi adatoktól eltérően saját beteganyagunkban az atípusos P-ANCA pozitív és negatív Crohn-betegek klinikai megjelenési formája nem különbözött egymástól. Hasonlóképpen colitis ulcerosus betegekben sem találtunk fenotípus-szerotípus összefüggést.

6. A szerológiai markerek és az innate immunitásban szerepet játszó receptorok mutációi közötti kapcsolatot vizsgáló néhány tanulmány eredményei ellentmondásosak. Munkánk során azt találtuk, hogy Crohn-betegségben a bakteriális komponensekkel szemben kialakuló szerológiai válaszok kapcsolatban állnak a NOD2/CARD15 genotípusokkal. Szerológiai gén-dózishatás is kimutatható volt és a szerológiai válasz mértéke korrelált a sebészi beavatkozások szükségességével. A szerológiai markerek és a NOD2/CARD15 genotípus kapcsolata alátámasztja a megváltozott mikrobiális érzékelés jelentőségét a Crohn-betegség pathogenesisében.

7. Eredményeink alapján elmondható, hogy a típusos és az atípusos P-ANCA elkülönítésére az irodalomban javasolt, formalin-fixált lemezeket is használó módszer és mikroszkópos kritériumrendszer nem kellően megbízható és reprodukálható eljárás rutin laboratóriumi körülmények között, illetve fluoreszcens mikroszkóp használatával. A P-ANCA antitesteket (függetlenül attól, hogy etanol-fixált lemezeken típusos vagy atípusos mintázatot mutatnak) együtt kell értékelni. Az anti-MPO és anti-PR3 antitestek alacsony titerrel jelen lehetnek IBD-ben is. Az ANCA vizsgálat (IIF+ELISA) eredményének értelmezése csak a klinikai tünetek ismeretének birtokában lehetséges. A laktoferrin, BPI, kathepsin G, elasztáz és lizozim elleni antitestek meghatározása úgy tűnik, nem szolgál használható információkkal IBD-ben.

## Függelék

### Az értekezéshez közvetlenül kapcsolódó saját publikációk jegyzéke:

- 1. Papp M**, Lakatos PL; Hungarian IBD Study Group; Palatka K, Foldi I, Udvardy M, Harsfalvi J, Tornai I, Vitalis Zs, Dinya T, Kovacs A, Molnar T, Demeter P, Papp J, Lakatos L, Altorjay I: Haptoglobin polimorfizmus vizsgálata gyulladásos bélbetegségekben. Orvosi Hetilap, 2006, 147: 1745-50.
- 2. Papp M**, Lakatos PL; Hungarian IBD Study Group; Palatka K, Foldi I, Udvardy M, Harsfalvi J, Tornai I, Vitalis Zs, Dinya T, Kovacs A, Molnar T, Demeter P, Papp J, Lakatos L, Altorjay I: Haptoglobin polymorphisms are associated with Crohn's disease, disease behaviour and extraintestinal manifestations in Hungarian patients. Digestive Disease and Sciences, 2007; 52: 1279-84. IF 1,448
- 3. Papp M**, Foldi I, Nemes E, Udvardy, Harsfalvi J, Altorjay I, Mate I, Dinya T, Varvolgyi Cs, Barta Zs, Veres G, Lakatos PL, Tumpek J, Toth L, Szathmari E, Kapitany A, Gyetvai A, Korponay-Szabo IR: Haptoglobin polymorphism: a novel genetic risk factor for celiac disease development and its clinical manifestations. Közlésre elfogadva (2008.01.15): Clinical Chemistry. IIF: 5,454
- 4. Papp M**, Altorjay I, Lakatos PL: Szerológiai vizsgálatok jelentősége gyulladásos bélbetegségekben. Orvosi Hetilap, 2007; 148: 887-896.
- 5. Papp M**, Norman GL, Altorjay I, Lakatos PL: The utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: gadget or magic? World Journal of Gastroenterology, 2007; 13: 2028-36.
- 6. Papp M**, Altorjay I, Norman GL, Shums Z, Palatka K, Vitalis Zs, Foldi I, Lakos G, Tumpek J, Udvardy ML, Harsfalvi J, Fischer S, Lakatos L, Kovacs A, Bene L, Molnar T, Tulassay Zs, Miheller P, Veres G, Papp J, the Hungarian IBD Study Group, Lakatos PL: Sero-reactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, non-inflammatory disease behaviour and NOD2/CARD15 genotype, but not with response to medical therapy or risk for surgery. Inflammatory Bowel Diseases 2007; 13: 984-92. IF 3,912

## Egyéb közlemények:

1. **Papp M**, Mezei G, Udvardy M, Altorjay I: Haematológiai és haemostasis paraméterek változása transjugularis intrahepaticus portosystemas shunt (TIPS) hatására. Orvosi Hetilap, 2003; 144: 1341-5.
2. **Papp M**, Udvardy M, Vitális Zs, Tornai I, Altorjay I: Gastrooesophagealis varixvérzés – Újdonságok a patofiziológia terén. Orvosi Hetilap, 2006; 147: 309-314.
3. **Papp M**, Farkas A, Udvardy M, Tornai I: Bakteriális fertőzések májcirrhosisban. Orvosi Hetilap, 2007; 148: 387-395.
4. Vitalis Zs, **Papp M**, Tornai I, Altorjay I: A nyelőcsővarix-vérzés megelőzése és kezelése. Orvosi Hetilap, 2006; 147: 2455-63.
5. Lakatos PL, Fischer S, Claes K, Kovacs A, Molnar T, Altorjay I, Demeter P, Tulassay Z, Palatka K, **Papp M**, Rutgeerts P, Szalay F, Papp J, Vermeire S, Lakatos L; Hungarian IBD Study Group. DLG5 R30Q is not associated with IBD in Hungarian IBD patients but predicts clinical response to steroids in Crohn's disease. Inflammatory Bowel Diseases, 2006; 12: 362-8. IF 3,912
6. Fischer S, Lakatos LP; Hungarian IBD Study Group, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Altorjay I, **Papp M**, Szilvasi A, Tulassay Zs, Osztoivits J, Papp J, Demeter P, Schwab R, Tordai A, Andrikovics H: The ATP-binding Cassette Transporter ABCG2 (BCRP) and ABCB1 (MDR1) variants are not associated with disease susceptibility and disease phenotype in Hungarian patients with Inflammatory Bowel Diseases. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 2007; 42: 726-33. IF 1,869
7. Molnar T, Hofner P, Nagy F, Lakatos PL and the Hungarian IBD Study Group, Fischer S, Lakatos L, Kovacs A, Altorjay I, **Papp M**, Palatka K, Demeter P, Tulassay Zs, Nyari T, Miheller P, Papp J, Mandi Y, Lonovics J: NOD1 gene E266K polymorphism is associated with disease susceptibility but not with disease phenotype or NOD2/CARD15 in Hungarian patients with Crohn's disease. Digestive Liver Diseases 2007; 39: 1064-1070. IF 2,000

**Az értekezéshez kapcsolódó nemzetközi folyóiratokban megjelent idézhető absztraktok:**

**Papp M**, Palatka K, Foldi I, Udvardy M, Harsfalvi J, Tornai I, Kovacs A, Molnar T, Demeter P, Papp J, Lakatos L, Lakatos P, Altorjay I: Haptoglobin polymorphisms are associated with Crohn's disease, disease behaviour and extraintestinal manifestations in Hungarian patients. Gut 2006; 38 Suppl 2: A113 (MON-G-164).

**Papp M**, Lakatos PL, Udvardy M, Foldi I, Harsfalvi J, Balogh I, Altorjay I, Dinya T, Habior A, Szalay F, Tornai I: Haptoglobin and myeloperoxidase promoter polymorphism in primary biliary cirrhosis. Falk Symposia 155 – 157, 2006 október (378).

Veres G, **Papp M**, Lakatos PL, Arato A, Molnár K, Tornai I, Dezsőfi A, Szőnyi L. Haptoglobin polymorphism in primary sclerosing cholangitis. J Ped Gastro Nutr 2007; 44 Suppl: 226.

**Papp M**, Altorjay I, Norman GL, Shums Z, Palatka K, Vitalis Zs, Foldi I, Lakos G, Tumpek J, Udvardy ML, Harsfalvi J, Fischer S, Lakatos L, Kovacs A, Bene L, Molnar T, Tulassay Zs, Miheller P, Veres G, Papp J, the Hungarian IBD Study Group, Lakatos PL: Sero-reactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, non-inflammatory disease behaviour and NOD2/CARD15 genotype, but not with response to medical therapy or risk for surgery. JCC 2007; 1 Suppl 1: P-002 és Gut 2007; 39 Suppl 1: A141 (MON-G-268).

Lakatos PL, Altorjay I, Dotan N, Tumpek J, Sipka S, Lakos G, Udvardy M, Palatka K, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Tulassay Zs, Miheller P, Norman GL, Shums Z, Szamosi T, Papp J, **Papp M**: Comparing conventional and gASCA tests for the diagnosis and determination of clinical phenotype in Crohn's disease. Gut 2007; 39 Suppl 1: A119 (MON-G-162).

**Papp M**, Tumpek J, Norman GL, Shums Z, Lakos G, Sipka S, Altorjay I, Lakatos PL: Detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with inflammatory bowel diseases: interassay- and interobserver variability comparing four different commercially available assays. Gut 2007; 39 Suppl 1: A141 (MON-G-267).

### **Nemzetközi folyóiratokban megjelent idézhető absztraktok:**

Altörjay I, Palatka K, Mezei G, **Papp M**, Tornai I: Efficacy of mini-loop ligation in comparison to sclerotherapy in the treatment of esophageal varicosity. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2002, 55: AB196-TI896

Altörjay I, **Papp M**, Palatka K, Mezei G, Tornai I: Additional, continuous proton pump inhibitor treatment prolonged survival in cirrhotic patients following sclerotherapy because of variceal bleeding. *Gut*, 2002, 51:A175.

**Papp M**, Udvardy M, Varga Zs, Káplár M, Sipka S, Alexa M, Palatka K, Balogh I, Hársfalvi J, Altörjay I: Inflammation and aggressive proteolytic enzymes – Do they play a role in acute variceal bleeding? *Gut* 2004; 36 Suppl 1: A-259 (WED-G-137).

Palatka K, **Papp M**, Udvardy M, Altörjay I: Assessment of routine laboratory and clinical data for activity of Crohn's disease in correlation with myeloperoxidase and matrix metalloproteinase activity. *Gut* 2004; 36 Suppl 1: A-219 (TUE-G-336).

Kaplar M, Csongradi E, Paragh Gy, **Papp M**, Foldi I, Veszpremi A, Nagy B, Kappelmayer J: Changes in the level of soluble and thrombocyte surface P-selectin and the number of thrombocyte derived microparticles in obesity and in diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2006; 49 Suppl 1.

Fischer S, Lakatos LP, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Altörjay I, **Papp M**, Szilvasi A, Tulassay Zs, Osztoivits J, Papp J, Demeter P, Schwab R, Tordai A, Andrikovics H: The ATP-binding Cassette Transporter ABCG2 (BCRP) V12M and Q141K variants in Hungarian patients with inflammatory bowel diseases. *Gut* 2006; 38 Suppl 2: A112 (MON-G-160).

Lakatos PL, Fisher S, Claes K, Kovacs A, Molnar T, Altörjay I, Demeter P, Palatka K, **Papp M**, Tulassay Zs, Rutgeerts P, Szalay F, Vermeire S, Papp J, Lakatos L: DLG5 R30Q is not associated with inflammatory bowel disease in Hungarian IBD patients, but predicts clinical response to steroids in Crohn's disease. *Gut* 2006; 38 Suppl 2: A112 (MON-G-161).

Lakatos LP, Fischer S, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Altorjay I, **Papp M**, Szilvasi A, Tulassay Zs, Osztovits J, Papp J, Demeter P, Schwab R, Tordai A, Andrikovics H: The ATP-binding Cassette Transporter ABCG2 (BCRP) and ABCB1 (MDR1) variants are not associated with disease susceptibility and disease phenotype in Hungarian patients with inflammatory bowel diseases. JCC 2007; 1 Suppl 1: P-120

Udvardy ML, Szekeres-Csiki K, **Papp M**, Harsfalvi J: Quantitation of von Willebrand factor multimer distribution by densitometry. J Thromb Haemost 2007; 5 Suppl 2: P-W-198.

Tornai I, **Papp M**, Udvardy ML, Harsfalvi J. VWF functions, ADAMTS-13 activity and antigen levels in patients with liver cirrhosis. J Thromb Haemost 2007; 5 Suppl 2: P-T-207.

Gacsal N, **Papp M**, Harsfalvi J, Udvardy M: Haptoglobin polymorphism in patients with chronic lymphocytic leukemia. Blood 2007; 21 Suppl 1: P-037.

**Papp M**, Foldi I, Tumpek J, Varvolgyi Cs, Barta Zs, Sipka S, Dotan N, Korponay-Szabo IR, Nemes E, Veres G, Altorjay I, Lakatos PL: Anti-glycan antibodies in celiac disease before and after gluten-free diet. Gut 2007; 39 Suppl 1: A109 (MON-G-111).

Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Altorjay I, **Papp M**, Szilvasi A, Szabo O, Tulassay Zs, Miheller P, Papp J, Demeter P, Tordai A, Andrikovics H: The 3'UTR NFKBIA variant is associated with extensive colitis in Hungarian patients. Gut 2007; 39 Suppl 1: A133 (MON-G-230).

Molnar T, Hofner P, Nagy F, Lakatos PL, Fisher S, Lakatos L, Kovacs A, Altorjay I, **Papp M**, Palatka K, Demeter P, Tulassay Zs, Miheller P, Papp J, Mandi Y, Lonovics J: NOD1 gene E266K polymorphism is associated with disease susceptibility but not with disease phenotype or NOD2/CARD15 in Hungarian patients with Crohn's disease. Gut 2007; 39 Suppl 1: A134 (MON-G-233).



## Egyéb absztraktok

**Papp M**, Altorjay I, Káplár M, Udvardy M: A neutrophil granulocytá eredetű myeloperoxidase enzim szerepet játszhat-e a nyelőcsővarix rupturájában? Hematológia és Transzfúziológia 2005 (38) Suppl I: 63

Földi I, **Papp M**, Hársfalvi J, Káplár M, Udvardy M: Haptoglobin polimorfizmus szerepe a diabeteses angiopathia pathogenesisében. Hematológia és Transzfúziológia 2005 (38) Suppl I: 26

## Előadások

A Magyar Gasztroenterológiai Társaság 47. Nagygyűlés Balatonaliga (2005. június 7-11.): Hemosztázis paraméterek jelentősége a nyelőcső varixvézések prognózisában

A Magyar Belgyógyász Társaság Északkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos ülése (Debrecen, 2005. szeptember 22-24.): Krónikus B-vírus hepatitisz reaktivációja Non-Hodgkin-lymphomás betegen kemoterápia után

A Magyar Gasztroenterológiai Társaság Endoszkópos Szekciójának Vándorgyűlése (Pécs, 2005. október 7-8.): Rockall-score és a hemosztázis paraméterek jelentősége a nyelőcső varixvézések körjében

Dilemmák és megoldások gyulladásos bélbetegségben, 2005/II. (Budapest, 2005. november 19.): Crohn-betegség infliximab kezelése során jelentkező pulmonális eltérések

Nagyerdei Belgyógyászati Tudományos Napok (Debrecen, 2005. december 5.): Az érfalra ható agresszív tényezők szerepe a varixvézés kialakulásában

Fiatalkorú Gasztroenterológusok Munkacsoportjának I. Kongresszus (Harkány, 2006. március 31 – április 2.): Wilson-kór következtében kialakult akut fatális májelégtelenség fiatal nőbetegben

A Magyar Belgyógyász Társaság Északkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tavaszi Tudományos Ülése (Sátoraljaújhely, 2006. május 26.): Akut tápcsatornai vérzések ellátása vérző intenzív osztályunkon

Debreceni Belgyógyászati Napok szakvizsga-előkészítő és szakorvostovábbképző tanfolyam (Debrecen, 2005. június 12-16.): Autoimmun cholestaticus májbetegségek

Magyar Gasztroenterológiai Társaság 47. Nagygyűlés (Szeged, 2005. június 7-11.): Haptoglobin polimorfizmus kapcsolata a Crohn-betegség viselkedésével és extraintestinalis manifesztációival

4th Scientific Meeting of The Research Training Network „Real-time thrombosis” (Párizs, 2006. szept. 13-17.): VWF functions, ADAMTS-13 activity and antigen in patients with liver cirrhosis

II. Debreceni Gasztro-Immun Konferencia (Debrecen, 2006. november 17-18.): Szerológiai vizsgálatok jelentősége a gyulladásos bélbetegségekben

**Szcientometriai adatok:**

Összesített impakt faktor: 18,595

Közlemények száma: 13

Magyar nyelvű: 6  
Első szerzős: 5

Angol nyelvű: 7  
Első szerzős: 4