

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

**Az autoimmun folyamat aktivitásának megítélése  
endokrin orbitopathiában**

Dr. Ujhelyi Bernadett

Témavezető: Prof. Dr. Nagy Endre



**DEBRECENI EGYETEM**  
Egészségtudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2012

## **Az autoimmun folyamat aktivitásának megítélése endokrin orbitopathiában**

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében  
az egészségtudományok tudományágban

Írta: Dr. Ujhelyi Bernadett, általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Egészségtudományok Doktori Iskolája  
„Anyagcsere és endokrin betegségek megelőzése és kontrollja” programja  
keretében

Témavezető: Prof. Dr. Nagy Endre

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Ádány Róza, az MTA doktora  
tagok: Prof. Dr. Balázs Csaba, az MTA doktora  
Dr. Tsorbatzoglou Alexis, PhD

A doktori szigorlat időpontja: 2012. április 25.

Az értekezés bírálói:

Dr. Szabó Ágnes, PhD  
Dr. Gergely Lajos, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Ádány Róza, az MTA doktora

bírálok: Dr. Szabó Ágnes, PhD  
Dr. Gergely Lajos, PhD

tagok: Prof. Dr. Balázs Csaba, az MTA doktora  
Dr. Tsorbatzoglou Alexis, PhD

Az értekezés védésének időpontja: 2012. április 25.

## 1. Bevezetés és irodalmi áttekintés

Az endokrin orbitopathia (EOP) autoimmun pajzsmirigy betegségekhez társuló kórkép. Első leírása közel kétszáz évre nyúlik vissza, pontos etiopathogeneze azonban jelenleg sem ismert. Az EOP a Graves-Basedow kór (GB) leggyakoribb extrathyreoidealis megjelenési formája. Az EOP éves incidenciája nők esetén 16/100 000 fő, férfiak esetén 3/100 000 fő. A betegség nők között gyakoribb, azonban a súlyosabb forma a férfiakra jellemzőbb.

A betegségre hajlamosító tényezők közül legjelentősebb a dohányzás. Amellett, hogy a dohányosokban nagyobb eséllyel alakul ki EOP, a dohányzó EOP betegek kevésbé reagálnak az immunoszuppresszív kezelésre.

Az orbita folyamat krónikus autoimmun gyulladás, mely egyaránt érinti a retrobulbaris kötőszövetet és a külső szemizmokat. A folyamatot sejtes infiltráció kíséri, T lymphocyták, macrophagok és kis részben B lymphocyták infiltrálják az orbita szöveteit. Az immunfolyamat döntően celluláris mechanizmusú, azonban a folyamat kiváltásáért felelős antigén nem ismert. Az autoimmun folyamat színtere a retrobulbaris kötőszövet, a pathogenesisben legfontosabb szerepet játszó sejtek pedig a fibroblastok. A kötőszövet átalakulása (ún. remodelling) lymphocytá infiltráció és citokin felszabadulás által kiváltott fibroblast aktiváció következménye. Az aktivált fibroblastok különböző citokineket szekretálnak, a megemelkedő interleukin (IL)-1 és IL-6 koncentráció pedig hyaluronsav, prostaglandin E<sub>2</sub> és glükózaminoglikán (GAG) szintézist vált ki. Az aktivált fibroblastok maguk is T lymphocytá felszaporodást kiváltó kemokineket termelnek (például a RANTES és IL-16), a gyulladás helyére vándorló T lymphocyták pedig tovább erősítik a retrobulbaris kötőszövetben zajló autoimmun folyamatot.

Lymphocyták mellett az orbita kötőszöveinek macrophag infiltrációja is megfigyelhető. A macrophag eredetű citokinek fontos szerepet játszanak az EOP pathogenezisében. Az IL-1 valamint a TNF- $\alpha$  stimulálják a fibroblastok ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) expresszióját és így fokozott GAG termelést váltanak ki. A fibroblastok által termelt kollagén, GAG és hialuronsav az extracelluláris térben felszaporodik, ezáltal a kötőszövet ozmotikus nyomása megnő és oedema alakul ki. Összefoglalva, az autoimmun folyamat hatására proliferáló fibroblastok, a kötőszöveti alapállomány felszaporodás és a folyamat következményeként kialakuló oedema együttesen vezetnek a retrobulbaris kötőszövet tömegének növekedéséhez, kiváltva az endokrin orbitopathia jellegzetes klinikai megjelenését.

A betegség természetes lefolyása során a retrobulbaris gyulladás fokozatosan megszűnik, az immunológiai aktivitás lecseng és a betegség inaktív, fibrotizáló szakba megy át. Az orbita kötőszövetének autoimmun folyamata jelenti a betegség kezdetét, ekkor általában látványos, manifeszt klinikai tünetek még nincsenek. Ez az EOP ún. immunológiailag aktív szaka (továbbiakban: aktív EOP). A klinikai kép ennél később, a betegség kezdetétől számított 6-24 hónap között a legsúlyosabb. Ezt követően egy plató fázis alakul ki, mely 1-3 évig tart. Öt éves betegségtartam után a legtöbb esetben az aktív gyulladás megszűnik, és kialakul a kötőszövetes átalakulással járó inaktív, ún. „fibrotizáló” szak. Ilyenkor már autoimmun folyamat nem zajlik, a szövetekre a következményes hegesedés jellemző. A betegek nagy részének azonban még fennállnak, sőt súlyosbodhatnak is a panaszai, klinikai tünetei kifejezettebbé válhatnak. Az EOP súlyossága és aktivitása tehát nem szinonim fogalmak, az autoimmun folyamat kialakulása időben megelőzi a klinikai tünetek megjelenését, ezért a klinikai kép és a betegség aktivitása egymástól időben elkülönül.

Az endokrin orbitopathia kevésbé súlyos formái is jelentősen rontják a páciensek életminőségét, mind fizikai mind pszichoszociális vonatkozásban. A terápiaválasztás kulcskérdése a folyamat immunológiai aktivitásának megítélése, mivel az immunosuppresszív kezelés (corticosteroid és/vagy retrobulbaris irradáció) csak aktív szakban hatásos, míg tervezett kozmetikai illetve funkcionális rehabilitációs műtéti beavatkozások elvégzése csak inaktív szakban javasolt.

Az endokrin orbitopathia aktivitásának megítélésére számos eljárás ismert. Legelterjedtebb a Clinical Activity Score (CAS), mely az öt klasszikus gyulladáshoz tartozó jel közül négy (fájdalom, duzzanat, vörösség, funkciókárosodás) szemészeti tünetei alapján meghatározott pontrendszer. Ha a CAS érték 4 vagy nagyobb, aktív betegségre utal. A tíz vizsgált pontból azonban öt a szemhéjak illetve az elülső szegmentum állapotából következtet az autoimmun folyamat valódi helyének, a retrobulbaris kötőszövetnek az állapotára, további kettő pedig a páciens szubjektív panaszain alapul, sok esetben ezzel „felülbecsüli” a betegség aktivitását.

A képalkotó eljárások közül az orbita mágneses rezonancia (MR) vizsgálata terjed el leginkább az EOP aktivitásának megítélésére, aktivitás esetén a szemizmokon mért T2 relaxációs idő megnyúlik. Az MR azonban nem magát a gyulladást, hanem a következményes oedemát mutatja ki és nem a retrobulbaris kötőszövetben, hanem a következményesen érintett szemizmokban. Előnye, hogy pontos információt szolgáltat az orbita anatómiai viszonyairól, így dekompressziós műtét tervezésénél elvégzése hasznos segítség. Az izotópdiagnosztikai technikák közül az <sup>111</sup>In-octreotide scintigraphia (Octreoscan) alkalmazhatósága merült fel. A leképezés elve, hogy a radiofarmakon a gyulladás helyszínére vándorló lymphocyták szomatostatin receptorához kötődik, így a gyulladás helyén izotópdúsulás jön létre. Az Octreoscan eljárás előnye, hogy működési elvéből eredően

pontosan megjelöli a gyulladt szöveteket, hátránya, mely széles körű elterjedését is megakadályozta, a magas költsége. A  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA komplex egy 492 Da súlyú molekula, mely intravénás bejuttatás után – méretéből adódóan - a megnövekedett kapilláris permeabilitással rendelkező érszakaszon extravasalódik, míg normál kapilláris szerkezet esetén lumenen belül marad. Azokon a területeken, ahol gyulladás zajlik, a kapillárisok permeabilitása megnő, így a  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA extravasalódik. Az érpályából kijutó radiofarmakon az intersticiális folyadék polypeptidjeihez kötődve „megjelöli” az aktív gyulladás helyét. Az Octreoscan és DTPA SPECT vizsgálatot összevetve a mérési eredmények egymással jól korreláltak, ám az utóbbi lényegesen költséghatékonyabb eljárás.

Az endokrin orbitopathiához társuló szemfelszíni változások több évtizede képezik kutatás tárgyát. Gilbard és munkatársai figyelték meg, hogy az EOP betegek könnyének ozmolaritása megnő, és ez szemfelszíni változásokat okoz. A könny fehérje összetételének megváltozását Khalil és munkatársai írták le elsőként, a jelenség hátterében az EOP könnymirigyre kifejtett hatását feltételezték. Proteomikai vizsgálatok is alátámasztják a könny fehérje összetételében bekövetkező változásokat, azonban a biomerek pontos azonosítása a jövő kutatásainak feladata.

A könnymirigy érintettségét endokrin orbitopathiában több megfigyelés is alátámasztja. A pajzsmirigyhormonok könnymirigyre kifejtett direkt hatása ismert, mind szerkezetét, mind működését befolyásolják. A könnymirigy acinus sejtjei TSH receptort expresszálnak. A Graves-Basedow kórban megjelenő autoantitestek a könnymirigyben is kötődnek a TSH receptorhoz, a könnymirigy autoimmun károsodásához vezetve EOP esetén. A könnymirigy valódi gyulladását igazoló lymphocita infiltratiót octreotid scintigraphias (Octeroscan) vizsgálattal is megerősítették

## 2. Célkitűzések

### 2.1 A $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében

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

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

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

### **3. Betegadatok és módszerek**

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

#### **3.1. A $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében**

##### ***3.1.1. Betegcsoportok***

57 EOP-ban szenvedő beteg 114 orbitáját vizsgáltuk (44 nő, 13 férfi, átlagéletkor  $52.74 \pm 10.70$  év).

A kontroll csoportot 17 beteg (13 nő, 4 férfi, átlagéletkor  $48.12 \pm 11.99$  év) 34 orbitája alkotta. Valamennyien primer Raynaud syndroma miatt, alkar-kéz microcapillaris keringés meghatározása céljából estek át  $^{99m}\text{Tc}$  DTPA SPECT vizsgálaton, szemészeti és endokrinológiai szempontból egészségesek voltak. További kizárási kritérium volt a kórelőzményben szereplő sinusitis illetve rhinitis allergica.

##### ***3.1.2. Szemészeti és belgyógyászati vizsgálatok és terápia***

Az EOP betegek mindegyike igazolt Graves-Basedow kórban szenvedett, és a vizsgálat idején hormonálisan euthyreoid volt, vagy legfeljebb szubklinikus hyperthyreosis állt fenn. A páciensek részletes szemészeti vizsgálaton estek

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

### **3.1.3. <sup>99m</sup>Tc DTPA SPECT vizsgálat és követési idő**

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

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

Ezzel a módszerrel képi és numerikus információt is nyerünk az orbitákról.

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

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

#### **3.1.4. Speciális számítások és statisztikai feldolgozás**

A kontrollcsoportot alkotó 34 orbita felvett aktivitás értékének, 95. percentilisét tekintettük a normál orbita DTPA felvett aktivitás értékének. A betegcsoportban a kiindulási és kezelés utáni felvett aktivitás és CAS értékeket Student féle párosított t próbával vizsgáltuk.

EOP betegek esetén a kiindulási és az immunoszuppresszív kezelés utáni DTPA felvett aktivitás értékek különbségéből egy származtatott, ún. delta értéket számítottunk, további elemzéseinkhez ezt használtuk ( $\Delta$  DTPA = kezelés előtti DTPA – kezelés utáni DTPA). Pozitív  $\Delta$  DTPA a kezelés hatására bekövetkező javulásra utalt, míg változatlan vagy negatív  $\Delta$  DTPA esetén a folyamat immunológiai aktivitása nem változott.

Annak érdekében, hogy megvizsgáljuk a kiindulási érték (előtte DTPA) és az immunoszuppresszív kezelés hatására bekövetkező változás ( $\Delta$  DTPA) összefüggését, meghatároztuk a két érték közötti korrelációt. Ehhez először lineáris regressziós analízist végeztünk a kezelés előtti DTPA és  $\Delta$  DTPA értékeken. A kapott regressziós egyenletbe helyettesítettük a kontrollcsoportunk értékei alapján meghatározott normál orbita DTPA felső felvett aktivitás értékét (95. percentilis), így megkaptuk azt a  $\Delta$  DTPA

értéket, mely feletti változást valódi eltérésnek tartottunk, nem pedig a biológiai rendszerből adódó bizonytalanságnak.

Hasonlóan végeztünk korreláció számításokat a CAS vs.  $\Delta$ CAS, valamint CAS és  $\Delta$  DTPA vonatkozásában.

Statisztikai elemzés során Kolmogorov-Smirnov tesztet, Student féle párosított t próbát, Spearman féle korrelációt és lineáris regressziós analízist alkalmaztunk. Számításainkhoz a SAS for Windows 8.2 szoftvert használtuk.

Az eredményt  $p < 0.05$  esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

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

### **3.2.1. Betegcsoportok**

Az EOP csoportot 27 beteg 54 szeme (21 nő, 6 férfi, átlagéletkor  $43.4 \pm 15.2$  év), a GB csoportot 9 beteg 18 szeme (8 nő, 1 férfi, átlagéletkor  $46.8 \pm 11.7$  év), a kontrollcsoportot (C) 12 egészséges alany 24 szeme (7 nő, 5 férfi, átlagéletkor  $38.6 \pm 13.8$  év) alkotta.

### **3.2.2. Szemészeti és endokrin vizsgálatok**

Minden beteg részletes szemészeti vizsgálaton esett át (visusvizsgálat, réslámpás vizsgálat, szaruhártya fluoreszcien festése, könnytermelés mérése Schirmer teszttel, könnyfilm felszakadási idő (break up time, BUT) meghatározás, protrusio mérése Hertel exophthalmometer segítségével, ophthalmoscopia).

A szem elülső szegmentumának vizsgálatára (kötőhártya, caruncula, szaruhártya, elülső csarnok vizsgálata) a könnygyűjtés előtt került sor, a réslámpa fényerejét alacsonyra állítva, annak érdekében, hogy a reflexes könnyezést elkerüljük. A további szemészeti vizsgálatokra a könnyminta vétele után került sor. Azokat a betegeket, akinél bármilyen szemfelszíni

vagy szaruhártya érintettség volt látható, kizártunk a vizsgálatból. Minden csoportban kizárási kritérium volt minden olyan állapot, mely ismertén befolyásolja a könny citokin tartalmát (szaruhártya hámsérülés, szemcsepp használat, különös tekintettel antiglaucomás készítményre, uveitis vagy bármilyen krónikus szemészeti megbetegedés az előzményben, conjunctiván vagy bulbuson végzett szemészeti műtét az anamnézisben). Konzerválszermentes műkönny használat megengedett volt, de a mintavétel reggelén ezt sem cseppentették a páciensek. Kontrollcsoportban kizáró tényezőnek minősült a csökkent könnytermelés és a megrövidült könnyfilm felszakadási idő. Minden EOP beteg esetén meghatároztunk a Clinical Activity Score-t (CAS).

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

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

### ***3.2.3. A könnyminták gyűjtésének metodikája***

A könnyminta vétele steril üvegapilláris segítségével történt, az alsó könnymeniscusból. A könnygyűjtést minden alkalommal ugyanaz a vizsgáló végezte (UB). Atraumatikus mintavételre törekedtünk, kémiai vagy nasalis ingerlést illetve felszín érzéstelenítést nem alkalmaztunk. Egyik páciens sem használt rendszeresen szemcseppet. A konzerválszermentes műkönny használat megengedett volt, de a mintavétel napján ezt sem alkalmazhatták a páciensek. A mintavétel időtartama 2 perc volt, a gyűjtött könny mennyiséget

feljegyeztük. A mintákat centrifugálás nélkül 15 percen belül  $-70^{\circ}\text{C}$ -on fagyasztva tároltuk a további vizsgálatok elvégzéséig.

#### **3.2.4. Citokin, kemokin és PAI-1 meghatározása könnyben**

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

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

Az adatok elemzéséhez a gyártó által javasolt BenderMedSystems FlowCytomix™ Pro 2.4 szoftvert használtuk. A standard görbékét a gyártó által szolgáltatott referencia koncentrációknak megfelelően szerkesztettük meg. A gyártó által a detektálhatóság megadott alsó határai az alábbiak

voltak: IL-1 $\beta$  4.2 pg/ml, IL-6 1.2 pg/ml, IL-13 4.5 pg/ml, IL-17A 2.5 pg/ml, IL-18 3.3 pg/ml, TNF- $\alpha$  3.2 pg/ml, RANTES 25 pg/ml, valamint PAI-1 esetén 13.5 pg/ml. További hígítási standardok felvételével nagyobb érzékenységet sikerült elérnünk.

### 3.2.5. *Speciális számítások és statisztikai feldolgozás*

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

$$release = \frac{\text{könnyben mért koncentráció} \left(\frac{pg}{\mu l}\right) \times \text{gyűjtött könymennyiség}(\mu l)}{\text{gyűjtési idő} (\text{min})}$$

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

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

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

## 4. Eredmények

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

#### 4.1.1. *Az egészséges orbita normál DTPA felvett aktivitás értékének meghatározása*

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

#### 4.1.2. *Az EOP DTPA SPECT-el mért javulása az immunoszuppresszív kezelés hatására*

Az EOP betegek átlagos kiindulási DTPA felvett aktivitás értéke ( $11.03 \pm 4.26$  MBq/cm<sup>3</sup>) szignifikánsan magasabbnak bizonyult az immunoszuppresszív kezelés utáni átlagos felvett aktivitási értékénél ( $9.84 \pm 3.51$  MBq/cm<sup>3</sup>,  $p < 0.001$ ).

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

#### ***4.1.3. EOP aktivitás CAS alapján, valamint CAS és DTPA összefüggése***

Minden EOP beteg esetében meghatároztuk a kiindulási CAS értéket, mely átlagosan  $4.93 \pm 0.87$  volt, illetve a kezelés utáni CAS értéket mely  $4.22 \pm 1.78$ -nak adódott, a javulás mértéke szignifikánsnak bizonyult ( $p=0.009$ ). Fentihez hasonló módon meghatároztunk minden orbita  $\Delta$ CAS értékét is, azonban  $\Delta$ DTPA és  $\Delta$ CAS között nem találtunk statisztikailag igazolható korrelációt ( $r=0.094$ ).

#### ***4.1.4. A DTPA SPECT-el mért „valódi javulás” mértékének***

##### ***meghatározása***

Elemzésünk célja az volt, hogy meghatározzuk a változás azon mértékét, amit valódi javulásnak tartunk  $\Delta$  DTPA vonatkozásában. Lineáris regressziós analízist végezve a kezelés előtti DTPA és  $\Delta$  DTPA értékeken a  $f(x)=0.422x-3.46$  regressziós egyenletet kaptuk. Ezt figyelembe véve meghatároztuk a kontrollcsoport értékei alapján a normál DTPA felvett aktivitás felső határának tekintett ( $12.28\text{MBq/cm}^3$ ) értékhez tartozó  $\Delta$  DTPA értet, mely  $1.72$  volt; ennek megfelelően az  $1.72$ -nél nagyobb  $\Delta$ DTPA javulást tekintettük valódi javulásnak. Az EOP csoportban a  $\Delta$  DTPA átlagos értéke  $1.89 \pm 3.08$  volt.

#### ***4.1.5. DTPA SPECT prediktív értéke az immunoszuppresszív kezelés várható hatékonyságának előrejelzésében***

A vizsgálatba bevont 114 EOP orbitát két csoportra bontottuk annak alapján, hogy a kiindulási DTPA felvett aktivitásuk magasabb volt-e a normál DTPA felvett aktivitás felső határértékénél ( $12.28\text{MBq/cm}^3$ ). A két csoport összehasonlításakor az alábbi megfigyeléseket tettük. Az EOP betegcsoportban 80 orbita kiindulási DTPA felvett aktivitás értéke volt  $12.28$

MBq/cm<sup>3</sup> alatti. Ezeknek a DTPA vizsgálat által inaktívnak ítélt orbitáknak csupán 27.5%-a mutatott javulást immunoszuppresszív kezelés után. A 34 orbita közül, melyek kiindulási értéke 12.28 MBq/cm<sup>3</sup> feletti volt, azaz DTPA alapján aktívak voltak, 67.6%-a mutatott javulást terápia után. Végül azon orbiták közül, amelyeknek kiindulási értéke 6.1 MBq/cm<sup>3</sup> alatti volt, egy sem mutatott javulást a kezelés hatására. Fontos megjegyezni, hogy a vizsgálatba csak a klinikai vizsgálat alapján aktív (CAS≥4) eseteket válogattunk be.

Ennek alapján a 12.28 MBq/cm<sup>3</sup> feletti kiindulási DTPA felvett aktivitás érték immunoszuppresszív kezelés eredményességére vonatkozó pozitív prediktív értéke 76%, míg a 12.28 MBq/cm<sup>3</sup> alatti kiindulási DTPA felvett aktivitás érték negatív prediktív értéke 78%.

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

### **4.2.1. A szemészeti vizsgálatok eredményei**

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

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

Az EOP csoportban a CAS átlagos értéke  $3.82 \pm 2.0$  volt, a másik két csoportban CAS felvétele definíció szerint nem értelmezhető.

#### **4.2.2. Könnyiminták citokin, kemokin és PAI-1 meghatározás eredményei**

##### *4.2.2.1. Release és koncentráció különbség az egyes betegcsoportok között*

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

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

PAI-1 vonatkozásában a release érték mind az EOP, mind a GB csoportban szignifikánsan magasabbnak bizonyult a kontroll csoporthoz viszonyítva. Ugyanakkor PAI-1 esetén az EOP és GB csoportok közötti különbség is szignifikánsnak bizonyult. Tehát a PAI-1 release legmagasabb az EOP csoportban volt, GB csoportban közepes, a C csoportban legalacsonyabbnak bizonyult, minden csoport között a különbség szignifikáns volt.

##### *4.2.2.2. Összefüggés a vizsgált release értékek között*

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

1 citokin család citokinjei (IL-18:  $r=0.97$ ,  $p<0.001$ , IL-17A:  $r=0.89$ ,  $p<0.001$ ) vonatkozásában találtuk.

Pozitív korrelációt találtunk az összes vizsgált citokin és kemokin release értéke és a könnybe szekretálódó PAI-1 értéke között (IL-1 $\beta$ -ra vonatkozóan:  $r=0.23$   $p=0.002$ , IL-6-ra vonatkozóan:  $r=0.31$   $p=0.001$ , IL-13-ra vonatkozóan:  $r=0.30$   $p=0.001$ , IL-17A-ra vonatkozóan:  $r=0.23$   $p=0.015$ , IL-18-ra vonatkozóan:  $r=0.24$   $p=0.012$ , TNF- $\alpha$ -ra vonatkozóan:  $r=0.29$   $p=0.002$  valamint RANTES-ra vonatkozóan:  $r=0.23$   $p=0.014$ ).

#### *4.2.2.3. A release értékek összefüggése az életkorral*

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

#### *4.2.2.4. Pajzsmirigy hormonszintek vizsgálata*

A rutin endokrinológiai vizsgálat során elvégzett szérum pajzsmirigy stimuláló hormon, szabad pajzsmirigy hormon szintek, valamint TSH-receptor stimuláló antitest vonatkozásában (TSH, fT3, fT4, TRAb) nem volt szignifikáns különbséget az EOP és GB csoport betegek között, ami arra utal, hogy a csoportok közötti egyéb eltérések nem a pajzsmirigy funkció különbözőségéből származtak.

#### *4.2.2.5. A könnytermelés és a release értékek összefüggése*

A könnytermelés (Schirmer teszt) és citokin release vonatkozásában az alábbi összefüggéseket találtuk. A kontroll csoportban pozitív korreláció volt megfigyelhető minden vizsgált citokin és kemokin (IL-1  $\beta$ :  $r=0.53$ ,  $p=0.002$ ,

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

#### *4.2.2.6. A dohányzás és a release értékek összefüggése*

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

#### *4.2.2.7. Az EOP immunológiai aktivitásának összefüggése a release értékekkel*

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

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

## 5. Megbeszélés

Az endokrin orbitopathia pajzsmirigy betegségekhez társuló autoimmun kórkép. A betegség lefolyása során a kezdeti autoimmun gyulladást (aktív szak) az orbita szöveteinek heges átalakulása váltja fel (inaktív szak). A kezelési stratégia kialakítása során kulcskérdés, hogy a betegség immunológiailag aktív vagy inaktív. Az autoimmun folyamat térben és részben időben is elkülönül a klinikai tünetek megjelenésétől. Az aktivitás megítélésére korábban alkalmazott eljárások használhatósága különböző okokból korlátozott. A klinikai gyakorlatban jelenleg a CAS felvétele a legerterjedtebb módszer az EOP aktivitásának megítélésére. A módszer előnye, hogy a páciens anamnézise és rutin szemészeti vizsgálata során megítélhető. Hátránya, hogy sok esetben „felülbecsüli” az aktivitást, mivel a tíz vizsgált pontból öt a szemhéjak illetve az elülső szegmentum állapotától függ, így az orbitára vonatkozó informatív értéke csak közvetett lehet.

Vizsgálataink a betegség aktivitásának vonatkozásában két irányra oszlottak. Elsőként a nukleáris medicina technikai közül egy újabb radiofarmakonnal,  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA izotóppal végzett SPECT vizsgálat alkalmazhatóságát vizsgáltuk. Másrészt a könnyfilm összetételének megváltozására összpontosítottunk, az aktív és inaktív EOP betegek, illetve a Graves-Basedow kórban szenvedők könnyösszetételét vizsgálva. Olyan markert kerestünk, melynek megjelenése, szintjének megemelkedése vagy esetleg csökkenése összefüggésben áll a betegség aktivitásával.

A nukleáris medicina által alkalmazott képalkotó eljárások nem új keletűek az EOP aktivitásának diagnosztikájában. Az  $^{111}\text{In}$ -octreotide radiofarmakonnal végzett SPECT (Octreoscan) a lymphocytá felszaporodással járó gyulladás detektálásán alapul. Előnye, hogy működési elvéből eredően magáról a folyamat meglétéről vagy hiányáról ad

információt, hátránya, mely széles körű elterjedését is megakadályozta, a magas költség.

A  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA (dietilén triamin pentaacetát) SPECT ezen területen történő alkalmazhatóságával kapcsolatos első közlések munkacsoportunktól származtak. A  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA komplex a megnövekedett kapilláris permeabilitással rendelkező érszakaszon extravasalódik, míg normál kapilláris szerkezet esetén lumenen belül marad. Immunológiai aktív EOP betegek esetén a  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA az orbita kötőszöveiben extravasalódik, az intersticiális folyadék polypeptidjeihez kötődve „megjelöli” az aktív gyulladás helyét. A  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA dúsulása az inflammatio helyén SPECT módszerrel detektálható. Korábbi vizsgálataink megmutatták, hogy az Octeoscan és a DTPA SPECT vizsgálat eredményei egymással jól korrelálnak, azonban az utóbbi lényegesen költséghatékonyabb eljárás.

Az EOP aktivitásának megítélésére használt módszerek vizsgálata során bevett kutatási stratégia, hogy az immunosuppresszív kezelés hatásosságát, és annak előre jelezhetőségét ítélik meg az adott módszerrel. A kezdeti aktív szakban alkalmazott immunosuppresszív kezelésre a folyamat jól reagál, míg az inaktív szakban adott terápia már hatástalan. Ennek alapján feltételeztük, hogy azon betegek, akiket a klinikai rutin során használt eljárással (CAS) aktívnak minősítünk és nemzetközi ajánlásnak megfelelő algoritmus szerint kezelünk, reagálni fognak az immunosuppresszív kezelésre. Az általunk vizsgált leképzési technikával (DTPA SPECT) a betegeket kezelés előtt és után megvizsgálva, ki tudjuk válogatni azokat az eseteket, akik valóban jól reagálnak a kezelésre; ezek az orbiták kiinduláskor nyilvánvalóan aktívak voltak.

Az egészséges orbita normál DTPA felvett aktivitása korábban nem volt ismert. Első célunk ennek az értéknek a meghatározása volt, melyhez olyan pácienseket választottunk, akik mind szemészeti, mind endokrinológiai

szempontból egészségesek (ideális kontrollcsoport). A kontroll csoportba olyan Raynaud syndromás, rutin  $^{99m}\text{Tc}$  DTPA SPECT vizsgálatra kerülő betegeket válogattunk, akik szemészeti és endokrin szempontból egészségesek. Ezen betegek alkar-kéz SPECT vizsgálata során az orbita területéről is készítettünk felvételeket, ezt tekintettük a normál orbita DTPA SPECT képének és felvett aktivitásának. A kontrollcsoport felvett aktivitás értékeinek 95. percentilisében határoztuk meg az egészséges orbita normál értékének felső határát ( $12.28\text{MBq}/\text{cm}^3$ ). Az előbbi érték feletti orbitákat tartjuk aktívnak, az ez alattiakat inaktívnak EOP esetén. Ezen feltételezésünket kívántuk alátámasztani az EOP betegek követéses (prospektív) vizsgálatával.

Vizsgálatainkba 57 EOP beteget vontunk be, minden esetben az immunoszuppresszív kezelés előtt, majd azt követően átlagosan 5 hónappal végeztünk ismételt DTPA SPECT vizsgálatot. Az immunoszuppresszív kezelés indikációját, így a fő beválogatási kritériumot is a klinikai vizsgálattal meghatározott aktivitás, azaz a 4 vagy afeletti CAS érték jelentette. Ennek alapján érthető, hogy a kiindulási és kezelés utáni DTPA felvett aktivitás érték között szignifikáns különbséget találtunk, az utóbbi bizonyult alacsonyabbnak.

Az immunoszuppresszív kezelés hatásosságának vizsgálatához fontos ismernünk, hogy mekkora az a változás  $\Delta$  DTPA vonatkozásában (ahol  $\Delta$  DTPA a kiindulási és kezelés utáni DTPA felvett aktivitás különbsége), amit már valódi javulásnak tekintünk. A valódi javulás meghatározásához a lineáris regressziós analízis modelljét használtuk ( $\Delta \text{DTPA} > 1.72$ )

A kiindulási DTPA értékek vonatkozásában az orbiták mintegy nagyobb része, 70%-a volt az általunk meghatározott normál érték ( $12.28\text{MBq}/\text{cm}^3$ ) alatt, azaz DTPA tekintetében inaktív. Különösen érdekes

ez az arány, ha figyelembe vesszük, hogy a vizsgálatba csak a CAS alapján aktívnak ítélt eseteket válogattunk be. Ráadásul, ezen DTPA alapján inaktív orbiták 72.5%-a nem mutatott javulást a kezelés hatására, ami indirekt módon ugyancsak az autoimmun folyamat inaktivitásának bizonyítéka. A CAS felvétele során valószínűleg „túlbecsüljük” az aktivitást. Ennek többféle oka is lehet. Az inaktív EOP betegeknek heves szubjektív panaszai lehetnek, másrészt a betegek sokszor többszöri rákérdezés ellenére sem tudják megkülönböztetni a szemgolyó mögötti illetve szemmozgásra jelentkező nyomó fájdalmat a szemszárazság okozta diszkomfort szűrő jellegű éles fájdalmától. Ennek a két tünetnek a figyelembevétel az ilyen esetekben két ponttal tévesen emeli a CAS értékét. A CAS „túlbecslését” okozhatja továbbá, hogy a tíz pontból további öt a szem járulékos szerveire (szemhéjak) és az elülső szegmentumra (conjunctiva, caruncula) vonatkozik, melyeknek oedemája, hyperaemiája a visszamaradt nagyfokú protrusio következménye is lehet az inaktív szakban. Alátámasztja a feltételezésünket, miszerint több olyan bevilogatott páciens volt, akinél a CAS kiindulási és kezelés utáni értéke között volt szignifikáns csökkenés, de a CAS és  $\Delta$ CAS (kezelés előtti és utáni CAS érték különbsége) között nem találtunk olyan összefüggést, mint DTPA vonatkozásában. A  $\Delta$  DTPA és  $\Delta$  CAS között sem találtunk statisztikailag igazolható korrelációt.

Eredményeink arra utalnak, hogy a  $^{99m}\text{Tc}$  DTPA SPECT vizsgálat alkalmas az immunosuppresszív kezelés hatásának előrejelzésére, azaz az aktivitás megítélésére endokrin orbitopathiában. Azon betegek, akiknek kiindulási értéke  $12.28\text{MBq/cm}^3$  felett van, várhatóan jól reagálnak a terápiára, míg ez alatt terápiás előny nem várható, csupán a kezelés esetleges mellékhatásaival kell számolnunk. A vizsgálat pozitív prediktív értéke 76%, negatív prediktív értéke 78%.

Vizsgálataink második részében az EOP esetleges hatásait vizsgáltuk a könny összetételére. Az endokrin orbitopathiához társuló szemfelszíni változások több évtizede képezik kutatás tárgyát. Elsőként a könny ozmolaritásának emelkedését figyelték meg. A következményes szemfelszíni változások a könnyfilm felszakadási idő (BUT) és könnytermelés csökkenését, cornea epithel sejtjeinek károsodását okozzák.

A könny a szemfelszíni egyensúly fenntartásának igen fontos eleme. A szemfelszínen zajló változások a gyulladásoz reakciókban résztvevő sejtek (lymphocyták, macrophagok) aktiválódásával járnak, melyek különböző citokinek és kemokinek szekréciójához vezetnek. A könnyfilm citokin egyensúlyának változását az adott napszak, illetve a szemhéjak nyitott vagy zárt állapota is befolyásolja. A könny citokin tartalmát több szemészeti illetve szisztémás betegség is befolyásolhatja. A dohányzás, mely az endokrin orbitopathia ismert rizikófaktora, passzív formában is emeli a könny proinflammatorikus citokin szintjét. Közel azonos változásokat írtak le a könny összetételében egészséges dohányzó emberek és endokrin orbitopathiás betegek esetén.

A könny fehérje összetétele EOP esetén megváltozik, melynek hátterében a szemfelszíni változások mellett az EOP könnymirigyre kifejtett hatása is áll. Proteomikai vizsgálatok alátámasztották a könny fehérje összetételében bekövetkező változásokat, de a folyamatban résztvevő molekulák még azonosításra várnak.

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

A vizsgálatokat ún. multiplex bead array technikával végeztük, mellyel áramlási citometria segítségével egyszerre számos paramétert vizsgálhatunk. Egy szekretált fehérje könnybe való szekréciós rátája (release) sokkal pontosabb indikátor, mint a koncentráció, különösen mivel a könnytermelés sebessége egyénenként igen eltérő. A könnyalkotók 2 perc alatti termelődése (release, pg/2 min) az irodalomban több helyen használt paraméter, elemzéseinkhez ezt a paramétert és mértékegységet használtuk.

Graves-Basedow kórban a szövetek TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  és IL-6 koncentrációja megnő, a szérumban pedig az IL-6 szintje emelkedett. Ezzel ellentétben, vizsgálataink során nem találtunk szignifikáns különbséget a GB betegek és kontrollok könnye között a fenti citokinek vonatkozásában. Ebből arra következtetünk, hogy EOP esetén a proinflammatorikus citokinek megjelenése a könnyben nem a GB kór, hanem magának az orbitopathiának a következménye. A könnybe szekretálódó citokinek és kemokinek forrása számos; a könnymirigy és a kötőhártya járulékos könnymirigyei, a fibroblastok és a szemfelszínre vándorló immunokompetens sejtek mind felelősek a különböző citokinek felszabadulásáért. A könnymirigy érintettsége az EOP autoimmun folyamatában jól ismert. A kötőhártya és episclera gyulladása az EOP klasszikus klinikai tünetei előtt is kialakulhat. Újabban a szemfelszín érintettségét az autoimmun folyamat direkt manifesztációjának tekintik EOP esetén, nem pedig az exophthalmus mechanikai hatásának. A kötőhártya korai érintettségét Graves-Basedow kórban a manifeszt EOP előszobájának tartják.

Az EOP betegek könnyében szignifikánsan magasabbnak találtuk a TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18, IL-17A, IL-13 és RANTES release értékét a kontrollcsoporthoz viszonyítva.

A TNF- $\alpha$  és IL-1 $\beta$  macrophag eredetű citokinek és az EOP pathogenesisében kulcsszerepet játszanak, felszabadulásuk fokozza a

retrobulbaris kötőszövet fibroblastjainak ICAM-1 expresszióját és GAG termelését. A könnybe nagyobb mértékben szekretálódó TNF- $\alpha$  és IL-1 $\beta$  felveti ezek szerepét a könnymirigyben és a szemfelszínen is. Az IL-1 $\beta$  aktiválja a fibroblastokat, melyek ennek hatására a kemokineket termelnek (mint például a RANTES), további lymphocyta vándorlást kiváltva. Ez magyarázhatja az EOP betegek könnyében mért magas RANTES release értékét. Erős korrelációt találtunk az IL-1 $\beta$  és RANTES, valamint IL-1 $\beta$  és IL-18 release értékeiben. Korábban mind EOP, mind GB betegek szérumban emelkedett IL-18 koncentrációt írtak le, ezzel ellentétben az IL-18 release csak az EOP betegek könnyében bizonyult szignifikánsan magasabbnak a kontrollokéhoz képest, a GB páciensek könnyében nem.

IL-6 vonatkozásában több mint kétszeres release emelkedést tapasztaltunk az EOP betegek könnyében a kontrollcsoporthoz viszonyítva. A CAS értékek és az IL-6 release pozitív korrelációt mutatott. Ez arra enged következtetni, hogy összefüggés van a betegség aktivitása és az IL-6 könnybe való szekréciója között. Az IL-6 és EOP összefüggése nem új keletű, korábban a szérumban IL-6 koncentráció emelkedéséről mind EOP, mind GB kór esetén beszámoltak. A könny IL-6 koncentrációja Sjögren syndromában is megemelkedik. Bár az endokrin orbitopathia száraz szemmel jár, de ennek oka részben a csökkent könnytermelés (úgynevezett nem-Sjögren típusú száraz szem) részben pedig az exophthalmus miatti fokozott könnypárolgás. Az EOP önmagában nem társul Sjögren syndromával. Sjögren syndromában a könny IL-6 tartalma lényegesen magasabb, mint ún. nem-Sjögren típusú száraz szem esetén. A könnytermelés vizsgálata céljából mindkét betegcsoportunkban (EOP és GB) és a kontrollcsoportban is Schirmer tesztet végeztünk. Eredményeink az irodalmi adatokkal egybehangzóak, mind az EOP, mind az orbitopathia nélküli GB kóros páciensek könnytermelése alacsony a kontrollcsoporthoz képest. Megfigyeléseink alátámasztják a

feltételezést, hogy az EOP esetén megemelkedett citokin release nem csupán a csökkent könnytermelés következménye, mivel a könnytermelés a kontroll csoportban erős pozitív korrelációt mutatott minden vizsgált citokin release értékével, de sem az EOP, sem a GB csoportban nem találtunk összefüggést egyik citokin vonatkozásában sem a könnytermeléssel. Nem volt összefüggés a megemelkedett citokin release és a csökkent könnytermelés között. Éppen ellenkezőleg, bár a könnytermelés mennyisége mind EOP mind GB kór esetén csökken, a citokin felszabadulás mértéke mégis emelkedett, feltételezhetően az autoimmun folyamat következményeként. Mindez alátámasztja azt a feltételezésünket, hogy a klinikai aktivitással jól korreláló, EOP esetén szignifikánsan megemelkedő IL-6 release a könnyben nem a szemszárazság, hanem valóban az immunológiai aktivitás indikátora.

Az IL-13 egy T helper-2 citokin, melynek főként az IgE mediált immunitásban van szerepe. Krónikus szemfelszíni gyulladás esetén, ha ahhoz a szaruhártya érintettsége is társul, a könnyben az IL-13 szintje megemelkedik. A Graves-Basedow kóros betegek mintegy harminc százalékában a szérum IgE szint magas. Vizsgálataink során az EOP betegek könnyében észlelt emelkedett IL-13 release összefüggésben lehet a betegekre jellemző magasabb szérumszinttel. Valószínűbb azonban, az, hogy a szemfelszíni és szaruhártya érintettség következtében alakult ki. Bár a vizsgálatban nem vettek részt olyan betegek, akiknél a szaruhártyán nagy nagytárással hámszárazság, vagy fluorescein festődés lett volna megfigyelhető, de a korábbiakból következik, hogy EOP esetén klinikai tünetek hiányában is számolnunk kell szemfelszíni károsodással, hiszen maga az autoimmun folyamat érinti a szem elülső szegmentumát.

Az összes vizsgált marker vonatkozásában (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18, IL-17A, IL-13 és RANTES) megfigyeltük, hogy release értékük az EOP csoportban a kontrollokénál szignifikánsan magasabb volt. Ugyanakkor sem

az EOP betegek és a Graves-Basedow kóros páciensek, sem a Graves-Basedow kóros páciensek és a kontrollcsoport között nem találtunk szignifikáns eltérést egyik citokin release értékében sem. Megfigyeltük azonban, hogy a release érték a GB csoportban intermediér értéket mutatott az EOP és a kontrollcsoport értékei között. Ismert, hogy GB kórban a szemfelszíni érintettség sok esetben megelőzi a klasszikus EOP tüneteinek kialakulását. Feltételezhetjük, hogy a GB csoportban több olyan beteg is lehetett, akinél klinikailag az EOP még nem igazolt, de már zajlik a retrobulbaris autoimmun gyulladás („szubklinikus” EOP). Ahogyan a szemfelszíni érintettség is korábban megjelenik, a proinflammatorikus citokinek felszabadulása is megelőzheti a tünetek megjelenését, így korai jele lehet az orbita érintettségének Graves-Basedow kórban. Feltételezéseink szerint egyes esetekben a szubklinikus orbita érintettség Graves-Basedow kórban később sem manifesztálódik, míg más esetekben valódi endokrin orbitopathia alakul ki, az arra jellemző kötőszöveti átalakulással, mely a könnyben is reprezentálódik.

PAI-1 release tekintetében szignifikáns emelkedést találtunk, mind az EOP, mind a GB csoportban a kontrollokhöz viszonyítva. Az általunk vizsgált markerek közül a PAI-1 volt az egyetlen, ahol a könnybe való release vonatkozásában a GB és kontroll csoport között is tudtunk szignifikáns különbséget igazolni. A PAI-1 feltételezéseink szerint a szöveti remodelling során betöltött szerepével vesz részt a pathogenesisben. Erős pozitív korrelációt találtunk az összes vizsgált citokin és PAI-1 release vonatkozásában, mely alátámasztja a citokinek PAI-1 expresszióra gyakorolt hatását. Az EOP aktivitását tekintve, hasonlóan az IL-6 release-hez, PAI-1 release vonatkozásában is korrelációt találtunk a CAS értékkel. Jelenleg nem feltételezzük, hogy a PAI-1 release a könnyben a betegség aktivitásának indikátora lenne. A PAI-1 szerepe a szemfelszín homeosztázisának

fenntartásában ismert. Úgy véljük, hogy az általunk mind Graves-Basedow kórban, mind EOP esetén talált szignifikánsan magasabb PAI-1 release a szemfelszínen zajló korábban ismertetett folyamatok eredménye. Az elülső szegmentum érintettség tünetei reprezentálódnak a CAS-ban, magyarázva a talált összefüggést. A szignifikáns PAI-1 release emelkedés a GB csoportban valószínűleg a korábban részletezett szubklinikus orbita betegség következménye.

A dohányzás az endokrin orbitopathia jól ismert befolyásolható rizikófaktora. Már a passzív dohányzás is emeli a könnyfilm proinflammatorikus citokin tartalmát. Ezzel ellentétben vizsgálataink során nem találtunk összefüggést a dohányzás és a könny citokin tartalma között. Nem volt összefüggés sem az EOP, sem a GB csoportban sem az elszívott cigaretták számára, sem a dohányzás tényére (igen/nem) vonatkozóan. Hasonlóan Salvi és munkatársai sem tudták igazolni a dohányzás hatását a szérum IL-6, TNF- $\alpha$  valamint IL-1 $\beta$  koncentrációjára.

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

Munkánk során mind a képpalkotó eljárások, mind a laboratóriumi paraméterek között sikerült olyan új módszert találnunk, mely hasznos lehet

az endokrin orbitopathia aktivitásának megítélésében. A  $^{99m}\text{Tc}$  DTPA SPECT vizsgálat napjainkban már a klinikai gyakorlat számára is elérhetővé vált. A könnyfilm vizsgálata a molekuláris biológia technikáinak fejlődésével egyre egyszerűbbé és elérhetőbbé válik. Egy mindennapi gyakorlat számára elérhető módszer kidolgozása azonban még további vizsgálatokat igényel és a jövő kutatásainak feladata.

## **6. Az új eredmények összefoglalása**

### **6.1. A $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA SPECT vizsgálat alkalmazása az EOP aktivitásának megítélésében**

I. Igazoltuk, hogy a  $^{99m}\text{Tc}$  DTPA SPECT vizsgálat alkalmas az immunoszuppresszív kezelés várható hatásának előrejelzésére endokrin orbitopathiában.

II. Meghatároztuk az egészséges orbita, azaz a  $^{99m}\text{Tc}$  DTPA SPECT vizsgálat normál felvett aktivitás értékének felső határát, mely  $12.28\text{MBq}/\text{cm}^3$ -nek adódott.

III. Meghatároztuk azt a felvett aktivitás értéket, mely felett az immunoszuppresszív kezeléstől valódi terápiás eredmény várható, azaz az endokrin orbitopathia immunológiailag aktívnak tekintendő.

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

I. Igazoltuk, hogy a vizsgált citokinek és kemokin release értéke megemelkedik az EOP betegek könnyében.

II. Megfigyeltük, hogy a vizsgált paraméterek Graves-Basedow kóros páciensek könnyében is emelkedett tendenciát mutatnak. PAI-1 vonatkozásában ez az emelkedés a kontrollcsoporthoz képest elérte a statisztikai szignifikancia határát. Ezzel alátámasztottuk az orbita szubklinikus érintettségének elméletét szemtünetek nélküli Graves-Basedow kórban.

III. Igazoltuk, hogy a csökkent könnytermelés nincs hatással a könnyfilm citokin tartalmára EOP esetén, a bekövetkező változások a könnymirigyben és szemfelszínen zajló folyamat következményei.

IV. Összefüggést találtunk a betegség immunológiai aktivitását jellemző CAS és a könnyben mért IL-6 release között. Ez alapján feltételezzük, hogy az IL-6 release az aktivitás indikátora endokrin orbitopathiában.

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

Jelölt: Ujhelyi Bernadett

Neptun kód: AN07ZZ

Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

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

### További Közlemények

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



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

Összesített impakt faktor: 9.104

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

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

Debrecen, 2012.01.27



## **7. További saját publikációk jegyzéke**

### **7.1. Az értekezés témájában megjelent idézhető absztraktok**

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

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

### **7.2. Az értekezés témájához kapcsolódó poszterek**

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

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

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

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

### **7.3. Az értekezés témájához kapcsolódó előadások**

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

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

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

Ujhelyi B, Erdei A, Galuska L, Szabados L, Urbancsek H, Berta A, Nagy EV. Retrobulbaris irradiatio hatásának követése endocrin orbitopathiában. Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XXIII. Kongresszusa, Visegrád, 2010

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

Nukleáris eljárással a nem endocrin orbitopathiás Graves-Basedow kóros betegek orbitájában is kimutatható immunaktivitás  
Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XXIII. Kongresszusa, Visegrád, 2010

Ujhelyi B, Varga Zs, Balázs E, Nagy EV, Berta A. Cytokines in tears of patients with Graves' orbitopathy.  
Magyar Szemorvostársaság 2010. évi kongresszusa, HARVO Symposium Szeged, 2010

### **7.4. Egyéb előadások jegyzéke**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Magyar Szemorvostársaság 2011. évi kongresszusa, Siófok, 2011

*Ujhelyi B, Surányi É, Kettesy B, Berta A, Módis L* A terápiai kontaktlencse illesztés indikációi és gyakorlata.

Magyar Kontaktológiai Társaság Kongresszusa, Galyatető, 2011