

A Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Szemklinika (igazgató: prof. dr. Berta András egyetemi tanár)¹ és az Immunológiai Intézet (igazgató: prof. dr. Rajnavölgyi Éva egyetemi tanár)² közleménye

Pro- és anti-inflammatorikus citokinek meghatározása perforáló keratoplasztikán átesett betegek könnyéből

FODOR MARIANN,¹ BERTA ANDRÁS,¹ RAJNAVÖLGYI ÉVA,² GOGOLÁK PÉTER,² FACSKÓ ANDREA¹

Célkitűzés: Pro- (interleukin-6 [IL-6]) és anti-inflammatorikus (interleukin-10 [IL-10]) citokinek meghatározása perforáló keratoplasztikán átesett betegek könnyéből (különböző posztoperatív időszakban). Összehasonlítani ezen citokinek szintjét a komplikáció nélküli és a kilökődési reakción átesett betegek esetében.

Betegek és módszerek: Prospektív módon, 12 szaruhártya-átültetésen átesett betegről stimulálás nélkül könnyet gyűjtöttünk a posztoperatív 14 hónap során. A vizsgált időszakban 3 betegnél kilökődési reakció zajlott, míg 9 beteg esetében a transzplantátumok komplikációmentesek voltak. A levett könnyminták IL-6- és IL-10-koncentrációját áramlási citométerrel mértük meg.

Eredmények: Az IL-6 koncentrációja szignifikánsan nagyobb ($p=0,009$), míg az IL-10 koncentrációja szignifikánsan kisebb volt ($p=0,008$) a kilökődési reakción átesett betegeknél, a komplikációmentes esetekkel összehasonlítva. Az IL-6/IL-10 arány a vizsgált időszakban végig szignifikánsan nagyobb volt ($p=0,0231$) a kilökődési reakción átesett betegeknél.

Következtetések: A könnyben mért emelkedett IL-6- és az ezzel együtt járó csökkent IL-10-szint a szaruhártya-kilökődés indikátora lehet. Ezek a könnyben kimutatott változások azonban a transzplantáció végső kimenetelét nem jelzik előre.

Kulcsszavak: interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), könny, keratoplasztika

Fodor M, Berta A, Rajnavölgyi É, Gogolák P, Facskó A: Pro- and anti-inflammatory cytokine detection in human tears after penetrating keratoplasty

Aim: To determine the levels of pro- (interleukin-6 [IL-6]) and anti-inflammatory (IL-10) cytokine levels in postoperative tear samples from penetrating keratoplasty (PKP) patients with or without corneal rejection.

Methods: In a prospective design, nonstimulated tears were collected from the affected eyes of 12 patients at regular intervals for 14 months following PKP. Nine of the patients retained clear grafts, whereas 3 suffered endothelial rejection of the corneal graft within 14 months. The concentrations of the cytokines IL-6 and IL-10 were measured via cytometric bead array technology.

Results: The concentration of IL-6 was significantly higher ($p=0.009$), whereas IL-10 was significantly lower ($p=0.008$) in the tear samples from the patients with corneal rejection as compared with those with uncomplicated corneal grafts. The ratio IL-6/IL-10 was significantly higher ($p=0.0231$) throughout the examination period in the patients with endothelial rejection.

Conclusion: The enhanced release of IL-6 into the tears of patients with corneal graft rejection concomitantly with a decreased concentration of IL-10 may possibly serve as an indicator of the rejection process. However, the observed changes in tear composition do not categorically predict the final graft outcome.

Key words: interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), tears, penetrating keratoplasty

A szaruhártya-átültetések (PKP) súlyos szövődményének, a kilökődési reakciónak a patogenezise intenzíven kutatott terület.^{2,3,4,5,9,12,19} A cornea immunprivilegizált helyzete ellenére is a sikertelen szaruhártya-átültetések legfőbb oka még ma is a kilökődési reakció.^{11,14} A transzplantátum rejekcióját okozó sejteket, indirekt módon, a csarnokvízből meghatározott citokinszintekkel jellemezték,¹³ azonban a PKP-t követő posztoperatív időszakban a különböző citokinek jelentősége, mennyiségi és patológias változása még tisztázásra vár.^{6,16} Immunrejekció esetén a noninvazív módon gyűjtött könnyből történő citokinmeghatározás lehetőséget biztosíthat a cornea endotheliumának destrukciójában részt vevő citokinek vizsgálatához.

A citokinek a normál cornea integritásának fenntartásában is szerepet játszanak.¹⁷ A citokinhálózat („network”) extrém komplexitása miatt több citokin egyszerre történő meghatározása kívánatos. Minél jobban megértjük a citokinszekréció cornearejekció alatt bekövetkező változását és a rejekcióban részt vevő citokinek funkcióját, annál eredményesebben javíthatók a terápiás és prevenciók lehetőségei. A citokinek tulajdonságaiból adódóan a szekréciójuk mértékének kismértékű módosulása is mélyreható változásokat okozhat az allogén stimulusra adott immunológiai válaszban.⁸ Ismert, hogy a lokális immunválaszt a relatív citokinszintek, a citokinek egymáshoz viszonyított aránya jobban jellemzi, mint az

abszolút citokinkoncentrációk. Szaruhártya-kilökődési reakció esetén a citokin- és kemokinexpresszió változásait állatmodellekben mind mRNS,^{16,21} mind fehérje^{15,20} tekintetében vizsgálták, és humán fehérjevizsgálatokról is beszámoltak.^{5,6,13}

Vizsgálataink során célul tűztük ki, hogy pro- (interleukin-6 [IL-6]) és anti-inflammatorikus (interleukin-10 [IL-10]) citokineket határozzunk meg perforáló keratoplasztikán átesett betegek könnyéből. Célunk volt továbbá összehasonlítani a citokinek szintjét a komplikációmentes és a kilökődési reakción átesett betegek esetében.

Betegek és módszerek

Tizenkét perforáló keratoplasztikán átesett beteg érintett szeméből 14 hónapon keresztül, meghatározott rendszerességgel stimulálás nélkül könnymintát gyűjtöttünk. A vizsgálati csoportot a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemklinikájának betegei biztosították, a betegek átlagéletkora 45,0 év volt (18–70 év között, SD 14,2). A betegek adatait és a PKP indikációit az 1. táblázat tartalmazza. A vizsgálatba bevontak nem szedtek olyan gyógyszert, amely befolyásolta volna a könnytermelést, valamint immunológiai eredetű betegségben sem szenvedtek. A helsinki deklarációt betartva, a betegek beleegyezésével történtek a könnymintavételek. A donor corneákat maximum egy hétig tároltuk Optisol-GS-ben (Bausch&Lomb, USA).

Könnygyűjtés előtt réslámpával minden beteget megvizsgáltunk, alacsony fényerő mellett, hogy a reflexes könnyezést elkerüljük. A könnygyűjtés a műtét napján, majd az első, harmadik és hetedik posztoperatív napon reggel 7.30 és 8.00 között, az első cseppentés előtt történt, majd ezt követően minden egyes szemészeti kontroll alkalmával. Stimulálás nélkül, atraumatikusan steril üveggapillárisba gyűjtöttük a könnymintákat, érzéstelenítő csepp adása nélkül, az alsó könnymeniscusból, ügyelve arra, hogy a szemfelszín és a szemhéjat ne érintsük. A mintavételi idő minden esetben pontosan 2 perc volt, a levett könny mennyiségét feljegyeztük. A levett könnymintákat 15 percen belül, centrifugálás nélkül –80 °C-ra fagyasztottuk le a felhasználásig. A pipettázási és hígítási hibák elkerülésére azokat a könnymintákat, amelyek 4 µl alattiak voltak, kizártuk a vizsgálatból. Néhány esetben „száraz szem” miatt nem tudtunk könnymintát gyűjteni. Rejekció esetében a könnymintavétel

az immunsuppresszív terápia alkalmazása előtt megtörtént. Összesen 105 könnymintát értékeltünk.

Cornealis endothelialis rejekciót akut gyulladásos epizód esetén diagnosztizáltunk, amennyiben vagy endothelialis precipitátumokat és/vagy stromaödémát megnövekedett centrális cornealis vastagsággal igazoltunk.

Az IL-6 és IL-10 citokinek koncentrációját cytometric bead array (CBA) technika (BD Biosciences Pharmigen, San Diego, CA) alkalmazásával áramlási citométerrel végzett mérések alapján határoztuk meg. Az ismert koncentrációjú humán citokin standardminták további hígításával a gyártó által garantálnál nagyobb szenzitivitást sikerült elérnünk: IL-6 esetén 0,04 pg, IL-10 esetén 0,02 pg volt a mérési határ.

A könnyminták térfogatát, a citokinek koncentrációját és az IL-6/IL-10 arányt Wilcoxon-teszt segítségével hasonlítottuk össze a rejekción átesett és a komplikációmentes szaruhártya-átültetések esetei között. A betegcsoportonkénti átlagos citokinkoncentrációk időbeni lefutását helyi súlyozású regressziós simításos elemzéssel határoztuk meg (magyarázó változóként a napban mért követési időt véve). Az így kapott görbéket vonaldiagrammon ábrázoltuk. A szignifikanciaszintet minden esetben 0,05 alatti p-értéknél határoztuk meg.

Eredmények

Szaruhártya-átültetést követően 14 hónapon belül 3 betegben transzplantátumrejekció következett be, míg 9 betegnél a corneák komplikáció nélküliek maradtak. Mind a három kilökődött cornea esete a nagy kockázatú szaruhártya-átültetések közé tartozott. Az immunrejekció az átültetést követő 216., 422., valamint 83. napon lépett fel. A kilenc komplikációmentes PKP közül kettő nagy, hét kis rizikójú csoportba tartozott (1. táblázat). A két perc alatt gyűjtött könnyminták mennyisége között a rejekciós és komplikációmentes eseteket összehasonlítva nem találtunk szignifikáns különbséget ($p=0,096$).

Habár a betegek között a citokinkoncentrációkban nagy volt a különbség, az időbeli változások hasonló, jellegzetes mintázatot mutattak a vizsgált posztoperatív időszakban. A műtét maga gyors citokinkiáramlást okozott, mely minden esetben kimutatható volt. A korai poszt-

1. táblázat. A betegek adatai és a szaruhártya-átültetés (PKP) indikációi

Beteg	Kor (év/nem)	PKP indikációja	Korábbi immunreakció	PKP és a rejekció közötti napok
1.	24 ♂	Keratoconus	–	–
2.	55 ♀	Keratitis herpetica, leucoma vascularisata corneae, resectio transplantati (re-PKP)	+	–
3.	70 ♀	Degeneratio nodulare sec. Salzmann	–	–
4.	18 ♀	Dystrophia hereditaria endothelialis corneae	–	–
5.	59 ♀	Keratopathia bullosa, resectio transplantati (re-PKP)	+	–
6.	47 ♂	Keratopathia bullosa	–	–
7.	31 ♂	Keratoconus	–	–
8.	22 ♀	Keratoconus	–	–
9.	60 ♀	Degeneratio nodulare sec. Salzmann	–	–
10.	56 ♂	Keratitis herpetica, resectio transplantati (re-PKP)	+	216
11.	52 ♀	Dystrophia corneae reticulata Haab-Dimmer, recidiv. dystrophia (re-PKP)	–	422
12.	46 ♀	Keratitis superficialis chronica (pannus)	–	83

operatív fázisban (1. és 3. nap) mindkét citokin szintje emelkedett, amit inkább a műtéti trauma, mintsem az allogén válasz váltott ki. Az IL-6 esetében a praeeoperatív értékhez képest az első posztoperatív napon 25-szörös koncentrációemelkedést kaptunk, függetlenül a későbbi kilökődési reakciótól. Egy évvel a beültetést követően az IL-6 koncentrációja a tiszta szaruhártyák esetében visszatért a beültetés előtti szintre. A nem-komplikált PKP estén bifázisos IL-10-választ kaptunk, ami feltehetőleg a posztoperatív gyógyulással függhet össze. Az IL-10-szint lassú csökkenése után egy évvel a beültetést követően egy második csúcsot észleltünk (1. ábra).

Az IL-6 koncentrációja szignifikánsan nagyobb ($p=0,009$), míg az IL-10 koncentrációja szignifikánsan kisebb volt ($p=0,008$) a kilökődési reakción átesett betegek könnyében, a komplikáció nélküli esetekkel összehasonlítva.

Mivel a pro- és anti-inflammatorikus citokinek aránya meghatározza a szem gyulladási állapotát, így megvizsgáltuk az IL-6/IL-10 koncentráció arányát is, mely a vizsgált időszakban végig szignifikánsan nagyobb volt ($p=0,0231$) a kilökődési reakción áteső betegeknél.

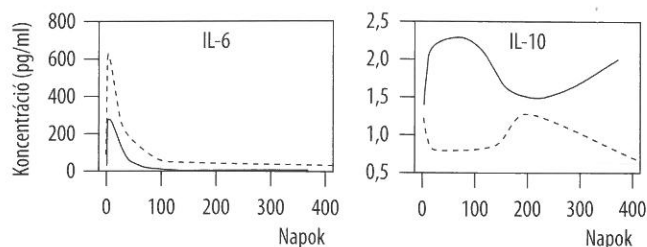
Megbeszélés

Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy azon betegek könnyében, akiknél szaruhártya-átültetést követően kilökődési reakció zajlik le, szignifikánsan nagyobb az IL-6, és ezzel egyidejűleg kisebb az IL-10 koncentrációja a komplikációmentes betegek könnyében mért citokin-koncentrációkhoz képest. Vizsgálatunk azt bizonyítja, hogy a cornealis graft elleni tolerancia IL-10 által való fenntartása fontos a kilökődési reakció megelőzésében. Igazoltuk egy pro- (IL-6) és egy anti-inflammatorikus (IL-10) citokin folyamatos jelenlétét humán könnyben a vizsgált 14 hónapos posztoperatív időszak alatt. Korai posztoperatív szakban mindkét citokin koncentrációja megemelkedik mind a későbbi rejección áteső, mind a tisztán maradó corneák könnyemintáiban, majd gyorsan lecsökken a szintjük. Ez a korai citokinválasz műtéti traumának, szöveti destrukciónak, illetve a varróanyag irritáló hatásának tulajdonítható.

Az IL-6-szint általunk humán könnyből kimutatott szignifikáns emelkedése a transzplantátum-rejección átesett betegekben a komplikáció nélküliekhez képest alátámasztja azt a korábbi megfigyelést, miszerint cornealis transzplantátum-rejección esetén a csarnokvízben emelkedett IL-6-szint mutatható ki.^{5,6} Azonban az IL-6-koncentráció változása önmagában nem tudja előre jelezni a kilökődési reakció bekövetkeztét. *Funding és munkatársai* szerint a nem-komplikált szaruhártya-átültetések esetében a csarnokvízben nem mutatható ki az IL-6-szint emelkedése.⁵ Ezzel ellentétben mi azt igazoltuk, hogy tiszta transzplantátumok esetén is a könnyben kis koncentrációban folyamatosan mérhető interleukin-6, melynek szintje csak a posztoperatív első év végére jut el a transzplantáció előtti szintre. Számos magyarázat létezik erre. Az IL-6-nak nagy szerepe van a cornealis transzplantátum tisztán maradásában, stimulálja a keratocyták kollagénszintézisét, valamint a cornealis epit-

helialis gyógyulást is elősegíti,¹⁸ így a perforáló keratoplasztika után tapasztalt jelentősen megemelkedett IL-6 release a normális gyógyulási folyamatot is jelzi. Az IL-6 része az endogén anti-inflammatorikus rendszernek is.¹⁸ A posztoperatív szakban elnyújtott IL-6- és IL-10-expressziót figyeltek meg cornealis allograftokban, ellentétben az autograftokkal, ahol az interleukinexpresszió csak rövid ideig volt kimutatható.¹⁶ Állatmodellekben az IL-6- és IL-10-mRNS up-regulációját mutatták ki közvetlenül a traszplantáció után, mely rejección esetén folyamatosan magas maradt, azonban normalizálódott a ki nem lökődő esetekben.^{9,15} Az eltérő kutatási eredmények közötti látszólagos ellentmondásoknak több oka is lehet: egyrészt a különböző beteganyag, másrészt a vizsgált minták különbözősége (csarnokvíz, cornea vs. könny). A különböző módszerek (ELISA vs. CBA) eltérő érzékenysége is megnehezíti az eredmények összehasonlítását. Mindezek mellett az állatmodellekből kapott *in vitro* eredmények nem vethetők össze direkt módon az *in vivo* humán szituációkkal.¹⁰

Ismeretes és nagy fontossággal bír, hogy az IL-10 jelenléte alapvető fontosságú az első csarnokhoz kötött immundeviáció („anterior chamber-associated immune deviation”) fenntartásában.^{6,11} Ez az anti-inflammatorikus citokin az angiogenezisben is szerepet játszik.^{9,14} Vizsgálatunkban az IL-10-koncentráció szignifikánsan kisebb volt a transzplantátum-rejección áteső betegeknél, mint a tiszta grafttal bíró betegekben, ami az endothelialis immunrejección eseteiben a transzplantátum-rejección patofiziológiájának fontos jelzője lehet. Az IL-10 állatmodellekben csökkenti a graftrejección, a transzplantátum túlélését növeli.^{1,7,10} A kapott eredményekből feltételezhetjük, hogy szaruhártya-átültetést követően a könnyben kimutatott emelkedett IL-10-szint a grafttoleranciát jelzi, és a rejección során az IL-10 a gyulladási T-helper válasz egyik gátló faktoraként hat. Az IL-10 csökkenti a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) II. osztályú membránfehérjéinek expresszióját a monocyta/macrophag rendszer sejtjein, befolyásolva ezzel antigénprezentáló funkciójukat. Az IL-10 azáltal szabályozza a monocytákat, hogy csökkenti más proinflammatorikus citokinek (TNF- α , IL-1 β és IL-8) produkcióját,² másrészt IL-10 az aktivált T-sejtek apoptózisindukciója után is felszabadul.⁹ Eredményeinkkel ellentétben más szerzők nem tudtak kimutatni a csarnokvízből IL-10-et nem-komplikált corneatranszplantáció eseteiben,⁶ de megállapították, hogy



1. ábra. Az IL-6- és IL-10-koncentráció (pg/ml) változása a posztoperatív időszakban (napok) rejección áteső (---) és nem-komplikált (—) esetekben

elégtelen immunosuppresszív mechanizmusok jelenlétében a transzplantátum kilökődési esélye megnő.

A pro- és anti-inflammatorikus citokinek arányának eltolódása kilökődési reakcióhoz vezethet. Vizsgálatunk során a transzplantátum-rejekció eseteiben észlelt alacsonyabb IL-10- és emelkedett IL-6-szint maga után vont az IL-6/IL-10 arány növekedését. A különböző könny-minták legátfogóbb összehasonlítást a pro- és anti-inflammatorikus citokinek aránya jellemzi.

Vizsgálataink limitációs faktorai a következők:

1. a könnygyűjtésbe bevont betegek kis száma,
2. néhány könnymintában az IL-10 koncentrációja közel volt a kimutathatósági küszöbhez, ami nehéz-zette a pontos meghatározást,
3. az alkalmazott terápia nem volt azonos a komplikált és a nem-komplikált esetekben (a rejekciós esetekben mindig alkalmaztunk iv. vagy po. kortikoszteroidkezelést).

Ezenfelül számos kérdés megválaszolatlan maradt. Reméltük, hogy detektálni lehet a könnyben azt a citokint, mely használható a transzplantátum-rejekció markereként, de az általunk vizsgált két citokin közül egyik sem képes a rejekciót előre, biztonsággal jelezni. További vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy megtaláljuk azt a citokinkombinációt, amely valóban képes előrejelezni a PKP-t követő kilökődési reakciót. A jelen vizsgálat azonban az első lépés abba az irányba, hogy a szaruhártya-átültetést követő immunológiai célú könnyvizsgálatok hogyan segíthetnek a klinikai kép hosszú távú megítélésében, valamint a preventív célú terápia kutatásában.

Köszönetnyilvánítás

OTKA támogatta kutatás: TO38348

Irodalom

1. Chen B., Kapturczak M.H., Joseph R., Agüera M., Navarro D., Santamaria R., Perez R., Del Castillo D., Aljama P.: Adeno-associated viral vector-mediated interleukin-10 prolongs allograft survival in a rat kidney transplantation model. *Am J Transplant* 2007; 7: 1112-1120.
2. Dallman M.J.: Cytokines as mediators of organ graft rejection and tolerance. *Curr Opin Immunol* 1993; 5: 788-793.
3. Fodor M., Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Berta A.: Interleukin-6 meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő állapotokban. *Szemészet* 2007; 144: 61-64.
4. Fodor M., Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Bessenyei E., Kardos L., Berta A.: Enhanced release of IL-6 and IL-8 into tears in various anterior segment eye diseases. *Ophthalmic Research* 2006; 38: 182-188.
5. Funding M., Vorum H., Nexø E., Moestrup S.K., Ehlers N., Møller H.J.: Soluble CD163 and interleukin-6 are increased in aqueous humour from patients with endothelial rejection of corneal grafts. *Acta Ophthalmol Scand* 2005; 83: 234-239.
6. van Gelderen B.E., van der Lelij A., Peek R., Broersma L., Treffers W.F., Ruijter J.M., van der Gaag R.: Cytokines in aqueous humor and serum before and after corneal transplantation and during rejection. *Ophthalmic Res* 2000; 32: 157-164.
7. Gong N., Pleyer U., Volk H.D., Ritter T.: Effects of local and systemic viral interleukin-10 gene transfer on corneal allograft survival. *Gene Ther* 2007; 14: 484-490.
8. Kijlstra A.: The role of cytokines in ocular inflammation. *Br J Ophthalmol* 1994; 78: 885-886.
9. King W.J., Comer R.M., Hudde T., Larkin D.F.P., George A.J.T.: Cytokine and chemokine expression kinetics after corneal transplantation. *Transplantation* 2000; 70: 1225-1233.
10. Klebe S., Sykes P.J., Coster D.J., Krishnan R., Williams K.A.: Prolongation of sheep corneal allograft survival by ex vivo transfer of the gene encoding interleukin-10. *Transplantation* 2001; 71: 1214-1220.
11. Niederkorn J.Y., Mayhew E., Mellon J., Hedge S.: Role of tumor necrosis factor receptor expression in anterior chamber-associated immune deviation (ACAID) and corneal allograft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2674-2681.
12. Pleyer U., Dannowski H., Volk H.-D., Ritter T.: Corneal allograft rejection: current understanding. *Ophthalmologica* 2001; 215: 254-262.
13. Reinhard T., Böcking A., Pomjanski N., Sundmacher R.: Immune cells in the anterior chamber of patients with immune reactions after penetrating keratoplasty. *Cornea* 2002; 21: 56-61.
14. Ritter T., Yang J., Dannowski H., Vogt K., Volk H.D., Pleyer U.: Effects of interleukin-12p40 gene transfer on rat corneal allograft survival. *Transplant Immunol* 2007; 18: 101-107.
15. Sano Y., Osawa H., Sotozono C., Kinoshita S.: Cytokine expression during orthotopic corneal allograft rejection in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 1953-1957.
16. Torres P.E., De Vos A.F., van der Gaag R., Martins B., Kijlstra A.: Cytokine mRNA expression during experimental corneal allograft rejection. *Exp Eye Res* 1996; 63: 453-461.
17. Torres P.F., Kijlstra A.: The role of cytokines in corneal immunopathology. *Ocular Immunol Inflamm* 2001; 9: 9-24.
18. Ventura A.C.S., Engelmann K., Dahinden C., Böhnke M.: Endotoxins modulate the autocrine function of organ cultured donor corneas and increase the incidence of endothelial cell death. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 1093-1098.
19. Yamagami S., Hamrah P., Zhang Q., Liu Y., Huq S., Dana M.R.: Early ocular chemokine gene expression and leukocyte infiltration after high-risk corneal transplantation. *Mol Vis* 2005; 11: 632-40.
20. Yamagami S., Kawashima H., Endo H., Tsuru T., Shibui H., Kagawa Y., Hori J., Yamagami H., Isobe M.: Cytokine profiles of aqueous humor and graft in orthotopic mouse corneal transplantation. *Transplantation* 1998; 66: 1504-1510.
21. Zhu S., Dekaris I., Duncker G., Dana R.: Early expression of proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor- α after corneal transplantation. *J Interferon Cytokine Res* 1999; 19: 661-669.

Levelezési cím: Dr. Fodor Mariann

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Szemklinika
4012 Debrecen, Nagyerdei krt. 98.

E-mail: mfodor@dote.hu