

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

**A gyermekkori otitis media catarrhalis chronica serosa
etiopatomechanizmusának vizsgálata**

Dr. Rezes Szilárd Gyula



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2010

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	4. old.
2. Irodalmi áttekintés	7. old.
2.1. Az OMCCS klinikai jellemzői	7. old.
2.2. Az OMCCS kialakulását elősegítő kóroki tényezők	8. old.
2.3. Az OMCCS kialakulásának patomechanizmusa	10. old.
3. Célkitűzések	13. old
4. Betegek, anyagok és módszerek	14. old.
4.1. Betegek és anyagok	14. old.
4.2. Gyulladásos fehérjék kimutatása a középfülváladékból	15. old.
4.2.1. Nefelometriás módszer albumin, immunglobulinok (IgG, IgM, IgA), komplement faktorok (C3, C4) és az akut fázis fehérje (C-reaktív protein, CRP) koncentrációjának mérésére	15. old.
4.2.2. ELISA módszer citokin koncentráció mérésére	16. old.
4.3. Vírusok kimutatása a középfülváladékból	16. old
4.3.1. Picornavírusok (rhino- és enterovírusok) kimutatása – reverz transzkripció, polimeráz láncreakció és hibridizációs módszer (RT-PCR-H)	16. old.
4.3.2. HBoV kimutatása kvantitatív PCR-ral	17. old.
4.4. Allergológiai vizsgálatok	18. old
4.4.1. Anamnesztikus adatok allergia vonatkozásában	18. old.
4.4.2. Prick teszt	18. old.
4.4.3. Szérum össz-IgE koncentrációjának vizsgálata	19. old.
4.4.4. Szérum allergén specifikus IgE koncentrációjának vizsgálata	20. old.
4.4.5. Kontroll csoport allergén specifikus IgE-k előfordulási gyakoriságának elemzéséhez	22. old.
4.5. Statisztikai elemzés	23. old.
5. Eredmények	24. old.
5.1. A középfülváladék gyulladásos fehérjéinek vizsgálatával nyert eredményeink	24. old.
5.1.1. A középfülváladékok megoszlása a váladék	

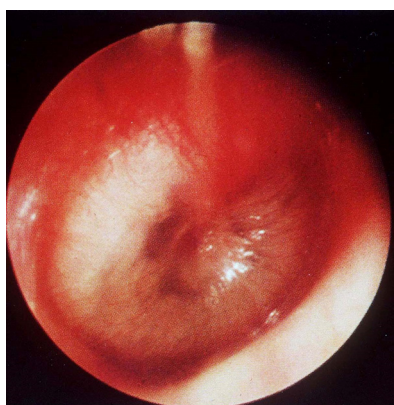
albumin és IgG koncentrációjának aránya alapján	24. old.
5.1.2. A váladékok IgA, IgM, C3, C4 és CRP tartalma	25. old.
5.1.3. A két váladékcsoport citokin összetételének összehasonlítása	26. old
5.1.4. A két váladékcsoport összehasonlítása a betegek klinikai adatai alapján	27. old.
5.2. A középfülváladék virológiai vizsgálatai során nyert eredményeink	28. old.
5.2.1. Vírus pozitív középfül váladék minták	28. old.
5.2.2. A középfülváladék viszkozitása és vírus pozitivitás	28. old
5.2.3. Kétoldali krónikus szerózus középfülgyulladás és a váladék vírus pozitivitása	29. old.
5.3. Az OMCCS betegcsoport jellemzése az allergológiai vizsgálatok alapján	30. old
5.3.1. Allergológiai anamnézis	30. old.
5.3.2. Prick teszt	30. old.
5.3.3. Szérum össz-IgE koncentráció	31. old.
5.3.4. Allergén specifikus IgE pozitivitás	31. old.
5.3.5. OMCCS betegcsoport és a kontrollcsoport összehasonlítása az allergén specifikus IgE vizsgálatok eredményei alapján	31. old.
6. Megbeszélés	34. old.
7. Új eredmények összefoglalása	40. old.
8. Összefoglalás	41. old.
9. Irodalomjegyzék	43. old.
9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke	43. old
9.2. Saját közlemények jegyzéke	48. old.
10. Tárgyszavak	50. old.
11. Köszönetnyilvánítás	51. old
12. Függelék	52. old.

1. Bevezetés

A középfülgyulladás (*otitis media*) a korai gyermekkor egyik leggyakoribb gyulladásos betegsége. Életük első évtizedében a gyermekek 93%-a legalább egy alkalommal, míg 74%-a három vagy több alkalommal esik át középfülgyulladásra (Greater Boston Otitis Media Study)⁵⁰. A középfülgyulladás magas incidenciája nagyszámú orvos-betegtalálkozást, gyakori gyógyszeres és sebészi kezelést, és magas egészségügyi költségeket eredményez. Az Egyesült Államokban a középfülgyulladás miatt végzett sebészi beavatkozások száma eléri az évi 600.000 műtétet⁴⁸. Az Egyesült Államokban az 5 éves vagy annál fiatalabb gyermekek középfülgyulladás miatti gyógyszeres és sebészi kezelésének éves összköltségét 5 milliárd dollárra becsülik¹⁵.

A középfülgyulladások nagyobbik csoportját zárt dobhártya mellett a középfül üregrendszerében zajló gyulladásos folyamat jellemzi, amely lehet akut (*otitis media acuta serosa*, *otitis media acuta suppurativa*) vagy krónikus (*otitis media catarrhalis chronica*) lefolyású. (A kisebb csoportot alkotó krónikus formák, melyeket tartós dobhártya perforáció (*otitis media chronica suppurativa*) vagy cholesteatoma (*otitis media chronica cholesteatoma*) jellemez, nem képezik tanulmányunk tárgyát.)

Az akut és krónikus formát egyaránt jellemzi dobüregi folyadékgyülem jelenléte, míg



1. kép. Akut középfülgyulladás
otomikroszkópos képe

elkülöníti az akut gyulladásos jelek, mint a láz, fájdalom, hiperémiás és elődomborodó dobhártya, jelenléte vagy hiánya. Dobüregi folyadékgyülem alatt – a kiváltó októl és a kórfolyamat lezajlásától függetlenül – a középfül üregrendszerében – és nem csak a dobüregben - felhalmozódó és perzisztáló folyadékot értjük. Mivel azonban a diagnózis felállítása és a mintavétel céljából való hozzáférhetősége szempontjából a teljes középfül üregrendszerével szemben csak a dobüregben lévő folyadék bír jelentőséggel, az egyszerűsítés kedvéért használjuk a dobüregi folyadék fogalmát.

Az akut, leggyakrabban gennyes középfülgyulladás és az *otitis media catarrhalis chronica serosa* (OMCCS) – vagy hétköznapi terminológiával a krónikus szerózus otitis –

között szoros összefüggés van. Széles körben elfogadott nézet, hogy nem két különálló kórképet, hanem egy betegség két stádiumát reprezentálják, ahol a krónikus szerózus otitis a korábban zajlott akut gyulladás nem gyógyult állapota. Teele akut középfülgyulladást követően 30 nappal a gyermekek 40%-ában, 3 hónappal a gyermekek 10%-ában észlelt perzisztáló dobüregi folyadékot⁵⁰. A két kórforma közötti szoros kapcsolatot jelzi az a tény is, hogy a kialakulásukhoz vezető hajlamosító tényezők is fedik egymást: a fiatal életkor, a fiú nemi dominancia, a cumisüveges táplálás, a zsúfolt lakáskörülmények, a gyermekközösségbe járás, az anyai dohányzás, az allergia, a vírusfertőzések és a különféle társbetegségek, mint a szájpadahasadék, az immundeficiencia, a ciliáris diszkinézis, a Down szindróma és a cisztikus fibrózis⁴¹.

Az OMCCS a viszonylag ritkán észlelt felnőttkori formája mellett gyermekkorban nagy gyakorisággal előforduló betegség. Az egy és három év közötti gyermekpopulációban a kórkép 10-30 % prevalenciát mutat és a 4 éves korcsoportban a kumulatív incidencia eléri a 80 %-os értéket²⁸. Nemi dominancia nem jellemző, azonos arányban jelentkezik fiú és lány gyermekeknél.

A betegség lényegét akut gyulladásra utaló klinikai tünetek és vizsgálati jelek nélkül a középfül üregében különféle stimulusok hatására felhalmozódó és perzisztáló változó viszkózitású folyadék adja. A felgyűlt váladék a hangvezető rendszer impedanciáját növelve a hangenergia egy részének elnyelődése révén vezetési típusú halláscsökkenés kialakulásához vezet. Ez a kis fokú halláscsökkenés sokszor az első és egyetlen jele a betegség fennállásának, melyet gyakran csak gyermekkori szűrő hallásvizsgálat tár fel. Mivel az ép hallás a gyermekek zavartalan mentális és emocionális fejlődésének fontos feltétele, a kórállapot korai felismerése és kezelése, valamint a kialakulásához vezető okok kutatása nagy jelentőségű.



2. kép. *Otitis media catarrhalis chronica serosa*
otomikroszkopos képe

A betegség patomechanizmusa tisztázatlan. A klasszikus fülkürt funkciózavar teória mellett széles körben elfogadott a fertőzések (elsősorban virális) illetve a lokálisan zajló allergiás reakciók etiológiai szerepe. A kiváltó stimulus hatására a dobüregi nyálkahártyában

gyulladásos folyamat indul el, amelyben aktivált gyulladásos sejtek és általuk termelt gyulladásos mediátorok, citokinek vesznek részt. Ezek kölcsönös egymásra hatása révén felszabaduló mediátorok hatására részben transzszudációs, részben exszudációs mechanizmus vezet a dobüregi folyadék felhalmozódásához. A kórkép kialakulásában szerepet játszó etiológiai faktorok valamint a tartós fennállását eredményező kórfolyamatok pontosabb tisztázása lehetőséget teremthet olyan prevenciós és terápiás módszerek kifejlesztésére és alkalmazására, amelyek elkerülhetővé tehetik a magas költségeket generáló sebészi beavatkozások gyakori szükségességét.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Az OMCCS klinikai jellemzői

A gyermekkorban észlelt halláscsökkenés leggyakoribb oka a krónikus szerózus otitis. Az irodalmi adatokban közölt 10-30 %-os gyermekkori prevalencia²⁸ a hazai kutatási adatokkal egybevág; a Borsod-Abaúj-Zemplén megyében néhány évvel ezelőtt bevezetett széles körű gyermekkori hallásszűrés program keretében megvizsgált 68651 hat évnél fiatalabb gyermek 14,1%-ánál igazolódott OMCCS vagy jelentős fülkürt funkciózavar⁴⁹. Az OMCCS prevalenciája a születéstől kezdve folyamatosan nő, maximumát 2 és 4 éves kor között éri el, majd 6 éves kor után az előfordulási gyakorisága csökken. Tos tympanometriás vizsgálatokkal mutatta ki, hogy míg újszülött korban ritkán van jelen OMCCS, addig 1 éves korra a vizsgált fülek 24%-a B típusú tympanogramot adott⁵². Középfülgyulladás miatt műtéten átesett 7277 norvég gyermek esetében a 4 és 6 év közötti korcsoportban volt a legmagasabb a betegség előfordulási gyakorisága²⁵.

Az OMCCS-t jellemző érzékszervi funkciócsökkenés egy kis-közepes fokú vezetékes típusú halláscsökkenés, amely a dobüregi váladék eltávolítása, a dobüreg normális légtartalmának visszanyerése esetén tökéletesen reverzibilis. Vitatott, hogy egy ilyen fokú halláscsökkenés hosszabb idejű fennállása okoz-e maradandó szövődeményeket a gyermekek kommunikációs, nyelvi, valamint értelmi fejlődésében. A gyermekek többségénél csak átmeneti negatív hatás észlelhető. Hátrányos körülmények (pl. rossz szociális háttér vagy eleve későn beszélni kezdő gyermek) mellett azonban a krónikus szerózus középfülgyuladást jellemző halláscsökkenés fluktuáló fellépése is eredményezhet elmaradást a gyermek nyelvi fejlődésében¹⁴.

Az OMCCS diagnózisát fülészeti és audiológiai vizsgálattal állítjuk fel. Otomikroszkópos vizsgálat során általában behúzódott, ritkábban normális állású, mozgásában korlátozott dobhártyát látunk, mögötte sötétes, folyadékkal kitöltött dobüreggel. A tisztahang küszöbaudiometria kisfokú halláscsökkenést igazol, amennyiben a folyadék kitölti a középfül üregét. Kevés folyadék esetén megtartott lehet a hallásküszöb. Tympanometria lapos (B típusú) görbét mutat.

A kórkép kezelése konzervatív és sebészi úton történhet. Antibiotikumok használata nem javítja a tüneteket, így hurut elleni kezelésként dekongesztív orrcseppet és antihisztamint alkalmazunk. Bluestone vizsgálatai azonban rámutatnak, hogy az intranazális vazokonstrikciót okozó cseppek és az antihisztamin alkalmazása a placebo csoportéhoz képest szignifikánsan nem gyorsítja a betegség gyógyulását⁸. Levegő mesterséges bejuttatása a dobüregbe (akár fülkürt katéterezés, Politzer ballon használat vagy autóinfláció révén) csak átmeneti javulást hoz, mivel egyrészt a felesleges levegő a fülkürtön át hamar távozik, másrészt a befűjt levegő oxigéntartalma gyorsan abszorbeálódik a nyálkahártyán keresztül. A paracentézis, a ventillációs tubus beültetés és az adenotómia, illetve ezek kombinációja bizonyult hatékony kezelésnek. A váladék perzisztálásának időtartamát, a recidíva jelentkezéséig eltelt időtartamot és az ismételt műtét szükségességének gyakoriságát tekintve a ventillációs tubus beültetés hatékonyabb kezelésnek bizonyul, mint a paracentézis és a váladék leszívása önmagában¹⁶. Az adenotómia hatékonysága részben a fülkürt funkció javulásával, részben az orrgarati fertőzőforrás eltávolításával magyarázható.

2.2. Az OMCCS kialakulását elősegítő kóroki tényezők

Az OMCCS kialakulását elősegítő és lezajlását befolyásoló etiológiai faktorok közül a fülkürt diszfunkció, az adenoid hiperplázia, a száypad hasadék, a felső légúti patogén vírusok és az allergia a legfontosabbak.

A klasszikusnak számító *fülkürt funkciózavar* teória pusztán mechanikai úton magyarázta az OMCCS kialakulását. A fülkürt két fő funkciója: a középfül szellőztetése és a dobüregi váladék clearance. Működési zavara esetén a középfül kieső ventillációja az üreget kitöltő gázok abszorpciójához, következményesen csökkent dobüregi nyomáshoz és váladék kilépéshez vezet. A fülkürt csökkent működése során a termelődött váladék eltávolításának elmaradása annak felhalmozódása irányába hat. Állatkísérleti modell igazolja, hogy a fülkürt lekötése középfülváladék képződéshez vezet. Az OMCCS esetén gyakran észleljük a dobhártya behúzódtott voltát, ami a középfül hipoventillált állapotát, a fülkürt csökkent működését jelzi. A fülkürt diszfunkció azonban nem kiváltó oka a krónikus gyulladós folyamatnak, hanem inkább annak következménye.

A megnagyobbodott *adenoid* etiológiai szerepe vitatott. Az OMCCS recidívájának gyakoriságát nem befolyásolja az orrmandula mérete, sőt az adenotómia hatékonysága sem

függ attól, hogy az orrmandula milyen méretű volt az eltávolítás előtt¹⁶. Az adenoid anatómiai közelsége a fülkürt orrgarati szájadékához felveti annak a lehetőségét, hogy mechanikailag elzárhatja azt. Honjo vizsgálataiban OMCCS-s gyermekek fülkürt működését hasonlította össze, ahol a betegcsoportban endoszkópos vizsgálattal a megnagyobbodott adenoid takarta a fülkürt orrgarati szájadékát, szemben a kontroll csoporttal, ahol a szájadék szabad volt. A fülkürt megnyílási nyomás illetve a pozitív nyomáskiegyenlítődés nem különbözött a két vizsgálati csoportban¹⁸, így levonható volt az a következtetés, hogy az adenoid nem mechanikailag zárja el a fülkürtöt. Az adenotómia fülkürt működésre gyakorolt pozitív hatása azzal magyarázható, hogy eltávolításával kiesik a kórokozó raktárként a fülkültre gyakorolt folyamatos újrafertőződést okozó szerepe.

A *szájpád hasadékhöz* nagy gyakorisággal társul középfülgyulladás. Oka a *musculus tensor veli palatini* rendellenes tapadása a lágyszájpád izomzatában, ami nyeléskor a fülkürtmegnyílás következményes elégtelenségét, és így a fülkürt funkcionális obstrukcióját eredményezi³⁸.

OMCCS-s gyermekek esetén a dobüregi váladékból leggyakrabban kimutatott patogén *vírusok*: a rhinovírus¹⁰, az RS(respiratory syncytial)-vírus³⁵ és a humán coronavírus³⁹. A vírusok kimutatása felveti azok etiopatogenetikai szerepét a kórkép kialakulásában, a kimutathatóság ténye azonban önmagában nem jelent ok-okozati összefüggést a vírusfertőzés és a váladék perzisztálása között. A leggyakrabban tanulmányozott patogén légúti vírus a rhinovírus, ami a közönséges nátha kórokozója. Középfülváladékból 0 – 40% gyakorisággal mutatható ki^{10,39}. Az enterovírusok által okozott légúti fertőzés szintén náthás tüneteket okoz. Az 2005-ben felfedezett humán bocavírus gyakran nem önálló fertőző ágens, hanem más vírusokkal együtt okoz megbetegedést¹¹. A HBoV jelenlétét és szerepét OMCCS-ban korábban nem vizsgálták.

Az OMCCS és az *allergia* összefüggésének vonatkozásában az irodalomban ellentmondó adatokat találunk, egyes szerzők megerősítik, mások vitatják a két kórkép közötti ok-okozati kapcsolatot. Yeo és mtsai. például a szérum eozinofil sejtszámának és össz-IgE koncentrációjának vizsgálata során nem találtak szignifikáns eltérést az OMCCS betegcsoport és a kontrollcsoport között, így nem látják igazolva a két kórkép közötti összefüggést⁵⁴. Hurst ellenben 52 OMCCS-s illetve tubusviselő gyermek mindegyikénél sikeresen igazolt allergiát a Prick teszt elvégzésével és kiemeli az alkalmazott antiallergiás immunterápia hatékonyságát¹⁹.

2.3. Az OMCCS kialakulásának patomechanizmusa

A krónikus szerózus középfülgyulladásnak kialakulása alapján két fő formája különíthető el: 1) az akut középfülgyulladást követően hosszan perzisztáló dobüregi folyadékkal jellemzett és 2) a szekretoros forma. Klinikai tünetek alapján a két forma között nem lehet biztonsággal különbséget tenni, csak a kórtörténet pontos ismerete nyújthat segítséget (1. táblázat).

1. táblázat. Az OMCCS két formája főbb jellemzőinek összehasonlítása.

	Akut középfülgyulladás után perzisztáló folyadék	Szekretoros forma
Fülkürt működés	gátolt	megtartott / gátolt
Dobhártya	behúzódott	normális állású / behúzódott
Okok	ciliáris diszfunkció ödéma, hiperplázia nagy viszkozitású váladék alacsony dobüregi nyomás	transztubáris vírusos infekció biofilm

Ad 1). Az akut gyulladás lezajlása után tartósan perzisztáló dobüregi folyadék oka a csökkent fülkürt működéshez társuló gátolt középfül clearance. Egészséges clearance esetén a fülkürt dobüregi szájadéka környéki ciliáris epitélium csillószőreinek mozgása a fülkürt felé sodorja a mukózat bevonó váladékot, ami aztán a fülkürtön keresztül az orrgaratba ürül. A gátolt clearance működés legfőbb okai: a) a ciliáris diszfunkció, b) a nyálkahártya ödéma és hiperplázia, c) a váladék fokozott viszkozitása és d) a középfül-orrgarat közötti nyomáskülönbség lehetnek. Ciliáris diszfunkciót bakteriális endotoxinok okozhatnak azáltal, hogy reverzibilisen bénítják a csillószőrök mozgását. Az akut gyulladásból visszamaradó ödéma és nyálkahártya hiperplázia elsősorban a fülkürt dobüreghez közeli szakaszán mechanikai akadályt képezve rontja a clearancet. A nagy viszkozitású, mukózus váladék mozgásban tartása ép ciliáris funkció mellett is nehezített. A középfül és az orrgarat közötti nyomáskülönbség növekedése tovább rontja a clearancet: egy adag váladék fülkürtbe továbbítása után tovább csökken a dobüregi nyomás, jobban retrahálódik a dobhártya és

romlik a fülkürt működés hatékonysága. Az akut gyulladás lezajlása után tartósan perzisztáló dobüregi folyadékkal járó formát egyértelműen a gátolt fülkürt működés, a csökkent középfülnyomás és a behúzódott dobhártya jellemzi. A negatív dobüri nyomás ventilációs tubus beültetésével rendezhető, és a kórfolyamat spontán szanálódása várható.

Ad 2). A krónikus szerózus otitis szekretoros formája elsősorban idősebb gyermekekre jellemző, ahol akut középfülgyulladástól függetlenül jelentkezik a betegség. A gyermekek többségénél azonban az anamnézisben itt is fellelhető a korai gyermekkori akut középfülgyulladásos epizód. A váladéktermeléshez vezető feltételezett mechanizmus egy olyan elhúzódó antigén stimuláció, amely a szenzitizált mukózában szekréción, exsudáción folyamatot indít el⁴³. Antigén stimulációhoz vezethet egyrészt az orrgarat felől transztubáris úton a dobüregbe jutó kórokozó (patogén vírusok), másrészt a nyálkahártya felszínén lévő biofilmben életképességét megőrző baktérium¹³. Habár tenyésztéssel a középfülváladékból baktériumot izolálni nem lehet, PCR technikával a metabolikus aktivitást mutató baktérium jelenléte a váladékban igazolható⁴². Mivel a fülkürt funkció romlása általában a gyulladásos folyamat jelentkezése után másodlagosan alakul ki, a szekretoros formában a fülkürt működése megtartott lehet, ami negatív dobüregi nyomás hiányában normális állású dobhártyaképpel társul. Az OMCCS hosszú fennállása azonban ebben a formában is vezethet fülkürt funkcióromláshoz és következményesen behúzódott dobhártyaképhez.

Ritkán előforduló formája a szerózus otitisnek az akut barotrauma által kiváltott forma. A középfülnyomás hirtelen esik a külső nyomás alá, és víztiszta szerózus váladék lép ki tisztán transzszudációs mechanizmus révén a középfülbe. A folyamat a hydrops ex vacuo elv alapján zajlik⁴⁰.

A dobüregi váladékképződés alapvetően két folyamat útján jöhet létre, amelyek egyszerre vannak jelen a középfület bélelő nyálkahártyában és együtt határozzák meg a váladék termelődését és összetételét: egy passzív, a mukóza mikrovaszkulaturáján keresztül megvalósuló, az érpermeabilitás fokozódásához kötődő transzszudációs és egy aktív, szekréción alapuló exsudációs mechanizmus. A két folyamat közötti különbségtételre alkalmas a szérum albumin. Az albumin kizárólag a máj parenchima sejtjeiben termelődik, és alacsony molekulamérete (Mr 68,000 protein) révén a szérumból könnyen átmegy a kapillárisfalán a környező szövetekbe. A középfülváladékban való megjelenése egyszerre jelzi a transzszudációs folyamat jelenlétét és jellemzi annak arányát. Az immunglobulin

jelenléte a középfülváladékban nagy mérete miatt (Mr150,000 protein) nem transzszudációs folyamat eredménye, hanem a dobüregi mukózában lévő aktivált B-sejtek termelik, így a lokálisan zajló gyulladásos folyamat markere. A középfülváladék albumin és immunglobulin-G koncentrációjának aránya alapján a váladék fehérje összetételének elemzése alkalmas lehet a váladékképződéshez vezető kórfolyamatok pontosabb megismerésére.

A dobüregben zajló krónikus gyulladásos folyamat etiopatomechanizmusának kutatásában a dobüregi mukózából származó szövetminták illetve a dobüregből nyert váladékminták fehérje és sejtösszetétel vizsgálata nyújt további fontos információt.

3. Célkitűzések

Vizsgálataink céljaul a nagy prevalenciát mutató OMCCS kialakulásának háttérében álló etiológiai faktoroknak valamint a kialakulása mechanizmusának pontosabb megismerését tűztük ki.

Ad 1). A dobüregi váladékképződéshez vezető két kórfolyamat (az érpermeabilitás fokozódás következtében fellépő passzív transzszudáció és a nyálkahártya stimulációja révén létrejövő aktív exszudáció) jelenléte kimutatható a váladék albumin és immunglobulin koncentrációjának meghatározásával. Célunk volt a váladék albumin és immunglobulin-G koncentráció arányának meghatározásával a váladékminták feltételezett kórfolyamat alapján való elkülöníthetőségének vizsgálata, valamint a különböző váladékminták jellemzése a váladék citokin [proinflammatorikus (TNF- α és IFN- γ) és az inflammatorikus (IL-4 és IL-8)] összetétele alapján.

Ad 2). Az OMCCS kialakulásában kóroki tényezőként számon tartott gyakori felső légúti patogén vírusokat (rhino- és enterovírusok) referenciaként használva a közelmúltban felfedezett human bocavírus (HBoV) dobüregi váladékban való előfordulásának és esetleges etiológiai szerepének vizsgálatát tűztük ki célul.

Ad 3). Az OMCCS és az allergia kapcsolatát jellemző ellentmondó irodalmi adatok miatt célul tűztük ki a két kórkép epidemiológiai összefüggésének vizsgálatát.

4. Betegek, anyagok és módszerek

4.1. Betegek és anyagok

OMCCS fő- vagy társdiagnózissal műtétre került 1 és 13 év közötti gyermekeket vontunk be prospektív vizsgálatainkba. Az OMCCS diagnózisát fülészeti és audiológiai vizsgálattal állítottuk fel. A fülészeti vizsgálat során az otomikroszkópos kép akut gyulladásos jelek hiánya mellett zárt, transzparens, behúzódtott dobhártyát mutatott tört, vagy hiányzó fényreflex-kúppal. Az audiológiai kivizsgálás a tisztahang küszöbaudiometriás vizsgálat során kislefokú (15-35 dB) vezetési típusú halláscsökkenést, a tympanometria során az érintett oldalon lapos (B típusú) tympanogramot igazolt. A diagnózis felállítását követően 7-10 napos rendszerességgel végzett kontroll vizsgálatokkal erősítettük meg a betegség fennállását, miközben konzervatív kezelést alkalmaztunk dekongesztív orrcsepp, nyákoldó és antihisztamin formájában. A konzervatív kezelés ellenére hat héten át perzisztáló folyadékgyülem esetén vontuk be a gyermekeket a vizsgálatba. A vizsgálatainkból kizártuk azokat a gyermekeket, akiknél arckoponya- vagy fülfejlődési rendellenesség, diagnosztizált immundeficiencia, rendszeres szisztémás vagy lokális szteroid vagy immunszuppressziós kezelés, a műtétet megelőző 3 héten belül felső légúti hurutos betegség állt fenn. A gyermekeket vizsgálatainkba csak részletes felvilágosítást követően aláírt szülői beleegyező birtokában vontuk be. Vizsgálatainkat a DE OEC Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottsága engedélyével végeztük.

A műtéti indikációt vagy az OMCCS vagy mellette fennálló egyéb eltérések, mint pl. hipertrófiázott adenoid és/vagy tonsillák, krónikus tonsillitis képezték, így az indikációt függvényében adenotómiát, tonsillektómiát vagy tonsilloadenotómiát és az érintett fülön paracentézist és/vagy ventillációs tubus beültetését végeztük. A víruskimutatásra felhasznált minták gyűjtését a DEOEC Fül-orr-gégészeti és Fej-nyaksebészeti Klinikáján és a Miskolci Megyei Kórházban párhuzamosan együtműködésben végeztük.

A dobüregi váladékot a hallójárat mechanikus tisztítása után a dobhártya elülső-alsó kvadránsában ejtett paracentézis nyíláson keresztül steril üvegszívóba nyertük. A váladékot makroszkópos jellemzői, viszkozitása alapján szerózus (tiszt, szalmasárga színű, víz sűrűségű) vagy mukózus (sűrű, ragasztószerűen nyúlós, glue-ear) csoportba soroltuk. A váladék mennyiségét milligramm pontossággal lemértük, majd 1 ml steril PBS (Phosphate Buffered Saline) oldattal (pH 7,2) a szívóból Eppendorf csőbe mostuk. Viroológiai vizsgálatokhoz a mintákat további felhasználásig -70 C-on tároltuk. Az immunológiai

vizsgálatokhoz a mintákat előbb 3000-es fordulatszámon 5 percig centrifugáltuk, majd a felülúszót tároltuk fagyaszttva.

Két, egymástól független, átfedés nélküli betegcsoportot vizsgáltunk. Az első betegcsoportba 56 gyermek tartozott (23 fiú; 4,9 év átlagéletkor; 0,9 és 12,6 év életkori szélsőérték), akiktől származó 88 fülvadákból a gyulladásos fehérjék koncentrációit határoztuk meg. A második betegcsoportot alkotó 54 gyermek (32 fiú; 5,4 év átlagéletkor; 2,8 és 9,8 év életkori szélsőérték) 75 fülvadákból végeztük el a víruskimutatásokat. Az allergológiai vizsgálatokat a második betegcsoport 54 gyermekéből 52-nél (31 fiú; 5,1 év átlagéletkor; 2,8 és 9,8 év életkori szélsőérték) tudtuk elvégezni, mivel két gyermek a posztoperatív időszakra tervezett vizsgálaton nem jelent meg.

4.2. Gyulladásos fehérjék kimutatása a középfülvadákból

A középfülvadákból lévő gyulladásos fehérjék koncentrációját a váladék felülúszójából határoztuk meg. A méréseket a DEOEC Regionális Immunológiai Laboratóriumában végeztük.

4.2.1. Nefelometriás módszer albumin, immunglobulinok (IgG, IgM, IgA), komplement faktorok (C3, C4) és az akut fázis fehérje (C-reaktív protein, CRP) koncentrációjának mérésére

A minták albumin, C3 és C4 koncentrációját automatizált BN II. Dade-Behring Nephelometerrel (Dade Behring Marburg, Németország) mértük. A vizsgált fehérje (antigén) és a specifikus antiszérum (antitest) reakciója során képződő inszolubilis antigén-antitest komplex a keverékre bocsátott 840 nm hullámhosszú infravörös mérőfényt szórja. A szóródás mértékét fotodióda segítségével mérjük, amely arányos a minta fehérjetartalmával. A vizsgált fehérje koncentrációját a nefelométer a memóriájában tárolt referencia görbék alapján adja meg. Mérési normál tartományok: albumin, 33-52 g/l; c3, 0,9-1,8 g/l és c4 0,1-0,4 g/l.

A minták IgG, IgA, IgM és CRP koncentrációját automatizált Cobas Mira Plus (Dako AS, Glostrup, Dánia) analizátorral mértük. A vizsgált fehérje és a gyári antiszérum reakciója során keletkező inszolubilis komplex által az interferencia szűrőn keresztül bocsátott monokromatikus fény elnyelődésének mértékét mérve és referencia görbéket használva határoztuk meg a vizsgált minta kérdéses fehérjéjének koncentrációját. Méréseink normál tartományai: IgG, 2,7-16 g/l; IgA, 0,07-4,0 g/l; IgM, 0,12-2,3 g/l és CRP, 0,0-5,0 mg/l.

4.2.2. ELISA módszer citokin koncentráció mérésére

Két proinflammatorikus (tumor nekrosis faktor- α , TNF- α ; interferon- γ , IFN- γ) és két inflammatorikus (interleukin-4, IL-4; interleukin-10, IL-10) citokin koncentrációját a nagy pontosságú és érzékenységű szendvics ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) módszerrel működő OptEIA humán citokin Set-ekkel (Pahrmingen, San Diego, California, USA) határoztuk meg. A 96 lyukú mikrotitráló lemez aljára kitapasztott specifikus anti-human citokin antitesthez kötődik a mintában található vizsgált citokin. Az immobilizált citokinhez biotinnal konjugáltatott anti-citokin antitestet és avidin-HRP konjugátumot adunk, ahol a strepavidin kötődik a biotinhoz, és a peroxidáz színreakció kíséretében a rendszerhez adott tetrametilbenzidin szubsztátját bontja. A színreakció intenzitása arányos az első lépésben lekötött citokin koncentrációjával, amit ismert koncentrációjú citokin standardok segítségével adunk meg pikogramm/milliliter egységben.

4.3. Vírusok kimutatása a középfülváladékból

4.3.1. Picornavírusok (rhino- és enterovírusok) kimutatása – reverz transzkripció, polimeráz láncreakció és hibridizációs módszer (RT-PCR-H)

A dobüregi váladékban lévő RNS-t 100 μ l mintából kereskedelmi forgalomban kapható RNS izoláló kit (QIAamp, QIAGEN GmbH, Hilden, Németország) segítségével extraháltuk. Az RT-PCR-H-t a Blomquist⁷ által leírt és Nokso-Koivisto³³, majd Suvilehto⁴⁷ által módosított metodika szerint végeztük. Öt μ l tisztított RNS-t reverz transzkripció során cDNS-é alakítottunk rhino-enterovírus specifikus primerek felhasználásával. A cDNS-ből 5 μ l-t PCR során amplifikáltunk. Az alkalmazott primerek a vírus RNS szál 5' végén lévő nem kódoló régió (NCR) komplementerei voltak. Ezen szekvenciák a rhinovírusok és az enterovírusok esetében azonosak, így a PCR során a genetikai anyag amplifikációja a két víruscsoportra nézve szimultán történt. A primerek nukleotid sorrendje 5'-GAAACACGGACACCCAAAGTA-3' és 5'-TCCTCCGGCCCCTGAATG-3', a próbái 5'-AGGGTTAAGGTTAGCC volt. Pozitív kontrollként az alábbi vírusokat használtuk: human rhinovírus-2, Cocksackie vírus-A16 és -B5 illetve echovírus-23. Minden lépésnél több negatív kontrollt is alkalmaztunk.

A PCR amplikonok identifikálása folyékony fázisú hibridizációs módszerrel történt³³. Streptavidinnel bevont microtiter tálcára adagoltunk 10 µl PCR terméket, és 50 mM NaOH oldattal denaturáltuk a cDNS-t. A DNS szál lemosása után két Europiummal jelölt oligonukleotid próbával (egy a rhinovírusoknak és egy az enterovírusoknak) (Wallac Oy, Turku, Finnország) hibridizációt végeztünk 37 °C-on 30 percig 40 mM Tris-HCl (pH 7,5) közegben. Az Europium fluoreszcenciájának mértékét fluoriméterrel mértük meg. Pozitívnak véleményyeztük a vizsgált mintát, ha a fluoreszcencia mértéke a negatív kontroll minták átlagértékét legalább az átlagtól való standard deviáció ötszörösével haladta meg.

A rhinovírusok azonosítására használt oligonukleotid szekvencia a 102 rhinovírus prototípusból 96-ot mutatott ki, de nem adott keresztreakciót az enterovírusokkal. Az enterovírusok azonosítására használt próba mind a 64 enterovírus szerotípus kimutatására alkalmas volt, azonban a 102 rhinovírusból 38-al keresztreakciót mutatott. A 6 rhinovírus prototípusból, amely nem volt kimutatható a rhinovírus próbával, 5 kimutatható volt az enterovírus próbával: HRV45, 51, 65, 71 és 87. Egy rhinovírus, a HRV12 egyik próbával sem volt kimutatható. Habár az alkalmazott próbaszekvenciák mindkét vírus esetében az ismert szerotípusok túlnyomó többségét detektálják, a fentiekben tárgyalt átfedések miatt a két víruscsoport közötti pontos elkülönítésre mégsem alkalmazható. Így vizsgálatainkban a pozitív hibridizációs eredmény azt jelenti, hogy „rhino-enterovírusok” vannak jelen a mintában.

4.3.2. HBoV kimutatása kvantitatív PCR-rel

A középfülváladékból (szerózus mintáknál 200 µl, mukózus mintáknál 20 mg felhasználásával) DNS izolálást végeztünk a kereskedelmi forgalomban kapható QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) felhasználásával. A 200µl desztillált vízben oldott DNS elegy 5µl-ét mértük a reakció oldatokhoz, így együttesen 25µl-es reakció elegy térfogatot alkalmaztunk. A PCR-hez TaqMan univerzális PCR master mix-et (PE Applied Biosystems) használtunk, mellyel a NP1 gén egy részletét amplifikáltuk a Kantola²⁴ által leírt metodika szerint. A mérési eredmény pozitív volt, ha a HBoV ST2 plazmid mennyisége elérte a 10 kópia/µl értéket. A kontamináció kiküszöbölése érdekében a minták, és a PCR reagensek előkészítése lamináris áramlású szekrényben, külön helyiségekben történt. Negatív kontrollként vizet használtunk.

4.4. Allergológiai vizsgálatok

A virológiai betegcsoportba beválasztott 54 gyermekből 52-nél a perioperatív időszakban allergológiai vizsgálatokat is végeztünk, amely részletes allergológiai anamnézis-felvételből, in vivo kután Prick teszt kivitelezéséből és in vitro laboratóriumi vizsgálatból: a szérum össz-IgE koncentrációjának méréséből, valamint inhalatív és nutritív allergén specifikus IgE kimutatásából állt. Az álnegatív bőrteszt eredmények elkerülésére a preoperatív időszakban antihisztaminnal kezelt gyermekeknél a vizsgálat időpontjának kiválasztásánál figyelembe vettük a gyógyszer kiürülési idejét.

4.4.1. Anamnesztikus adatok allergia vonatkozásában

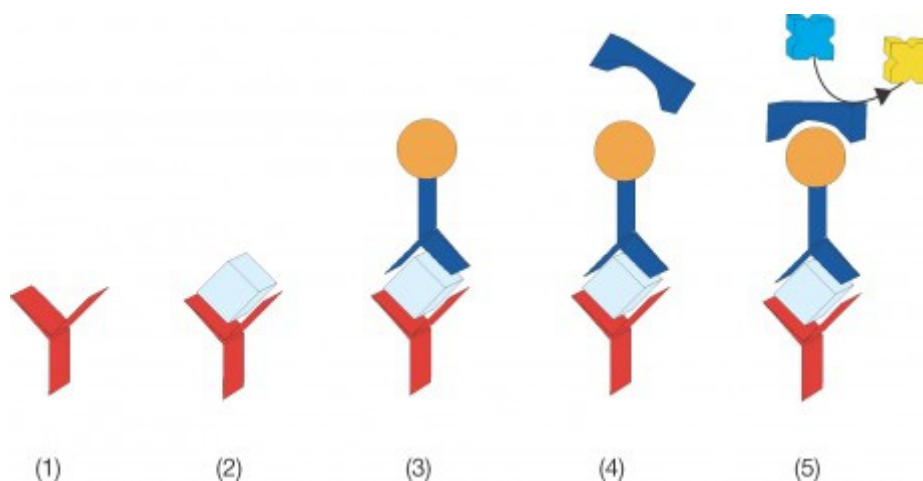
Az anamnézis felvétele során a korábban már diagnosztizált allergiás kórképekről (pl. atópiás dermatitisz, szénanátha, asztma, ételallergia) illetve allergiás hajlamra utaló tünetekről (évszakhoz kötött tüsszögés és orrcsorgás, bizonyos ételek fogyasztása után jelentkező enterális panaszok, gyógyszerérzékenység, stb.) gyűjtöttünk információt.

4.4.2. Prick teszt

Az intrakután Prick tesztet kereskedelmi forgalomban kapható allergén keverékekkel végeztük (HAL Priktest, Haarlems Allergen Laboratorium B.V., Haarlem, Hollandia), melyek alkalmazásával 20 gyakori allergénnel/allergéncsoporttal szembeni túlérzékenységet tudtunk vizsgálni. A vizsgált allergén csoportok a következők voltak: 1. fűkeverék, 2-4. tavaszi fák keveréke I-III., 5. kocsányos tölgy, 6. gabona keverék, 7. rozs, 8. kukorica, 9. mogyorófa, 10. gyomkeverék, 11. lándzsás útifű, 12. parlagfű, 13. fekete üröm, 14. penészgomba keverék, 15. *Alternaria alternata*, 16. *Cladosporium cladosporioides*, 17. macska, 18. kutya, 19. *Dermatophagoides Pteronyssinus* (európai háziporatká), 20. *Dermatophagoides Farinae* (amerikai háziporatká). Az allergiás bőrreakció mértéke alapján az adott allergénnel szembeni túlérzékenység mértékét négyfokozatú (egyttől négy keresztig) vizuális pozitivitási skála alapján jellemeztük.

4.4.3. Szérum össz-IgE koncentrációjának vizsgálata

A méréseket az ADALTIS Personal Lab Allergy ELISA automatán végeztük. A meghatározás szendvics típusú ELISA elven történik (1. ábra), ahol első lépésben a kitapasztott (szilárd fázisú) anti-humán IgE megköti a mintában lévő szabad IgE-t, majd ehhez a komplexhez kapcsolódik a második lépésben a biotinnal konjugált anti-IgE. Az immun-komplexhez streptavidin-peroxidáz konjugátum kötődik, amely a hozzáadott kromogén szubsztrátot (TMB – tetrametilbenzidin) hasítva színreakciót eredményez. A színreakció mértékét az oldaton átbocsájtott 450 nm-es fény abszorpcióját mérve fotometriás módszerrel határozzuk meg. A minta össz-IgE koncentrációját (ismert koncentrációjú oldatok fotometriás mérései révén készített) kalibrációs görbe alkalmazásával határoztuk meg, és az eredményeket kU/l egységekben adtuk meg.



1. ábra. A szendvics ELISA metodika alkalmazása a szérum össz-IgE koncentrációjának mérésénél. (1) anti-humán IgE; (2) anti-IgE – IgE komplex; (3) anti-IgE – IgE – anti-IgE-biotin komplex; (4) a szendvics immun-komplexhez strepavidin-peroxidáz komplex kötődik; (5) peroxidáz reakció során a tetrahidrobenzidin színreakciót ad.

A szérum össz-IgE szintje nem allergiás egyéneknél széles koncentráció tartományban változhat, és függ az életkortól (2. táblázat). Vizsgálataink során a szérum össz-IgE koncentrációját - a gyermekkori határértéket minden korcsoportban biztosan meghaladó - 120 kU/l érték felett tekintettük emelkedettnek.

2. táblázat. A szérum össz-IgE koncentráció normál tartományának változása az életkor függvényében.

Életkor (év)	IgE koncentráció (kU/l)
0-3	<10
3-4	<25
4-7	<50
7-14	<100
≥15	<150

4.4.4. Szérum allergén specifikus IgE koncentrációjának vizsgálata

Negyven inhalatív és negyven nutritív (3. táblázat) allergénnel vagy allergén csoporttal szemben termelt specifikus IgE koncentrációt a szérum össz-IgE koncentráció mérésének leírásánál ismertetett automatizált szendvics ELISA módszerrel határoztuk meg azzal az eltéréssel, hogy az első lépésben a vizsgált szérumban lévő allergén specifikus IgE-t cellulóz szálakhoz kovalensen kötött antigénekhez kapcsoltuk, majd az így keletkezett antigén-IgE komplexet jelöltük meg az enzimhez kapcsolt anti-IgE-vel. A fotoreagens enzimátikus bontása kemilumineszcenciát eredményez, amit CLA-1 Luminométerrel lumineszcencia egységekben (LU) mértünk. A mért LU értékek alapján a mintákat a 4. táblázat alapján CLA pozitivitási osztályokba soroltuk. A hatfokozatú pozitivitási osztályok esetén a 0, 1/0 és 1 érték az adott allergénnel szembeni alacsony reakciót (allergia negatív), a 2, 3 és 4 érték pedig túlérzékenységet (allergia pozitív) jelezi.

3. táblázat. A szérum antigén specifikus IgE koncentrációjának meghatározásakor vizsgált 40 inhalatív és 40 nutritív allergén.

Inhalatív allergének	Nutritív allergének
Konídiumos gomba (Alternaria) (m6)	Mandula (f20)
Kannapénész (Aspergillus) (m3)	Banán (f92)
Élesztőgomba (Candida) (m5)	Bab (f15)

Ecsetpenész (Penicillium) (m1)	Marhahús (f27)
Juhar (t1)	Báránhús (f88)
Enyves éger (t2)	Sárgarépa (f31)
Fehér nyír (t3)	Kazein (f78)
Mogyorófa (t4)	Baromfihús (f83)
Akác (t19)	Füge (f402)
Kőris (t15)	Datolya (f289)
Tölgy (t7)	Sárgabarack (f237)
Platán (t11)	Oliva bogyó (fekete) (f280)
Nyárfakeverék (t12, t14)	Tőkehal (f3)
Disznóparéj (w14)	Kukorica (f8)
Csomós ebír (g3)	Tojásfehérje (f1)
Réti komócsin (g6)	Tojássárgája (f75)
Réti perje (g8)	Fokhagyma (f47)
Csillagpázsit (g2)	Tehéntej (f2)
Nád (g7)	Nyúlhús (f213)
Termesztett rozs (g12)	Zab(f7)
Kukorica (g202)	Rizs(f9)
Termesztett zab (g14)	Gyöngyhagyma (f48)
Repce (w203)	Vöröshagyma (f48)
Búza (g15)	Narancs(f33)
Parlagfű keverék (w1, w3)	Borsó(f12)
Lándzsás útifű (w9)	Földimogyoró (f13)
Fekete üröm (w6)	Paradicsom (f25)
Sóska (w18)	Disznóhús (f26)
Kanadai aranyvessző (w12)	Burgonya (f35)
Szarvasmarha hámantigén (e4)	Őszibarack (f95)
Macska hámantigén (e1)	Rozs (f5)
Kutya hámantigén (e2)	Kagyló és rákfélék (f207, f23, f24)
Ló hámantigén (e3)	Szójabab (f14)
Hörsög hámantigén (e84)	Árpa (f6)
Csótány (i6)	Zeller (f85)

Csirketoll (e85)	Tonhal (f40)
Kacsatoll (e86)	Pulykahús (f284)
Libatoll (e70)	Dió (f256)
Poratka D. pteronys. (d1)	Búza (f4)
Poratka D. farinae (d2)	Élesztő (f45)

A zárójelben feltüntetett betű és szám az adott allergén nemzetközi azonosító kódja.

4. táblázat. A szérumban allergén specifikus IgE meghatározás során mért lumineszcencia egységek (LU) értéke alapján a minták pozitivitási osztályba sorolása, és az egyes osztályok jelentése.

Pozitívítási osztály	LU	Allergén specifikus IgE koncentráció
4	>242	Nagyon magas
3	143-242	Magas
2	66-142	Közepes
1	27-65	Alacsony
1/0	12-26	Nagyon alacsony
0	0-11	Nem kimutatható

4.4.5. Kontroll csoport allergén specifikus IgE-k előfordulási gyakoriságának elemzéséhez

Az allergén specifikus IgE-k előfordulási gyakoriságát saját eredményeink és a kontroll csoportként választott 818 gyermek eredményeinek összehasonlításával elemeztük. A kontroll csoportba változatos légúti és/vagy enterális panaszokkal általános gyermekgyógyászati járóbeteg szakrendelésen és/vagy allergiás panaszokkal gyermek allergológiai szakrendelésen vizsgált 1 és 6 év közötti életkorú gyerekek kerültek, akiknél a kivizsgálás részeként vérvétel történt allergén specifikus IgE mérése céljából. A vizsgálati és kontroll csoport életkori és nembeli összetétele nem mutatott eltérést.

4.5. Statisztikai elemzés

A statisztikai elemzést a Windows Statisztikai Analitikai Programjával, 8.2 verzió végeztük (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). Az immunológiai vizsgálatok során mért fehérjekoncentrációkat az átlag, az átlagtól való eltérés (standard deviáció, SD), a középérték és a középértékhez tartozó kvartilisek megadásával jellemeztük. Az albumin és globulin koncentráció hányadosa alapján képzett csoportok közötti különbséget az értékek logaritmikus transzformációja után a Student-féle T-teszttel elemeztük.

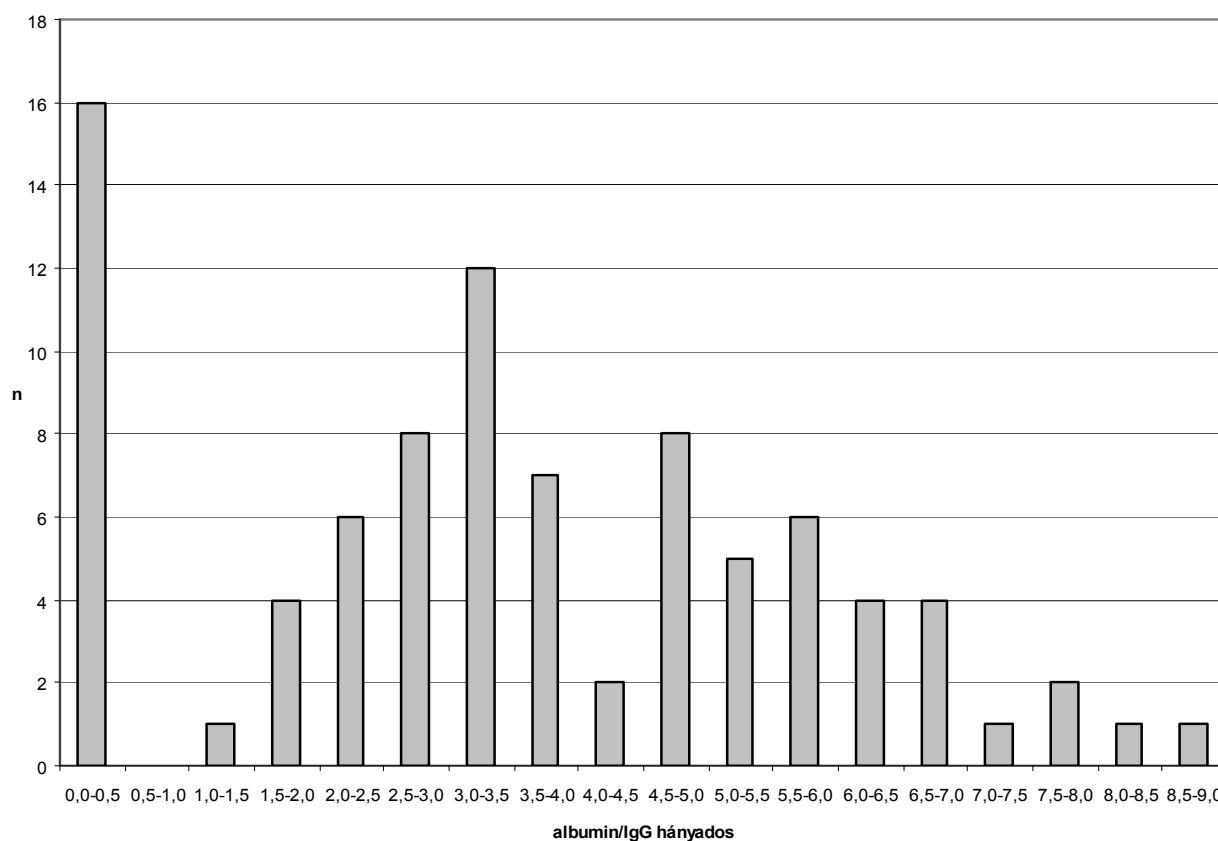
A virológiai betegcsoportban a fülvadás viszkozitása alapján képzett két csoport vírus prevalenciájának összehasonlítását a Fisher exact teszt alkalmazásával végeztük. Ugyanezen betegcsoport és a választott kontrollcsoport között a szérum allergén specifikus IgE pozitivitását a khi-négyzet próbával vizsgáltuk, ahol a szignifikancia mértéke $p \leq 0,05$ volt.

5. Eredmények

5.1. A középfülvádék gyulladásos fehérjeinek vizsgálatával nyert eredményeink

5.1.1. A középfülvádékok megoszlása a váladék albumin és IgG koncentrációjának aránya alapján

A kontroll csoportot alkotó 31 egészséges gyermek vérvizsgálata során a szérum albumin és IgG koncentrációjának hányados (A/G) értékei normális eloszlást mutattak (közép $\pm$ SD = 4,12 $\pm$ 1,13). Az 56 beteg gyermek 88 középfülvádékát a váladék A/G értéke alapján két, egymástól élesen elkülönülő csoportba soroltuk (2. ábra).



2. ábra. A középfül váladék minták megoszlása a váladék albumin és IgG koncentráció hányadosának függvényében. n= minták száma.

A két csoport közötti határértéket (0,73) úgy határoztuk meg, hogy a kontroll csoportot jellemző szérum A/G középértékből (4,12) háromszor kivontuk a hozzá tartozó SD értéket

(1,13). A határértéknél kisebb A/G hányadost (A csoport; $A/G < 0,7$) 13 gyermek 16 fülvélőadéában találtunk (18,2%), míg a határértéket meghaladó A/G hányadost (B csoport; $A/G > 0,7$) 43 gyermek 72 fülvélőadéában mértünk (81,8%).

5.1.2. A vélőadékok IgA, IgM, C3, C4 és CRP tartalma

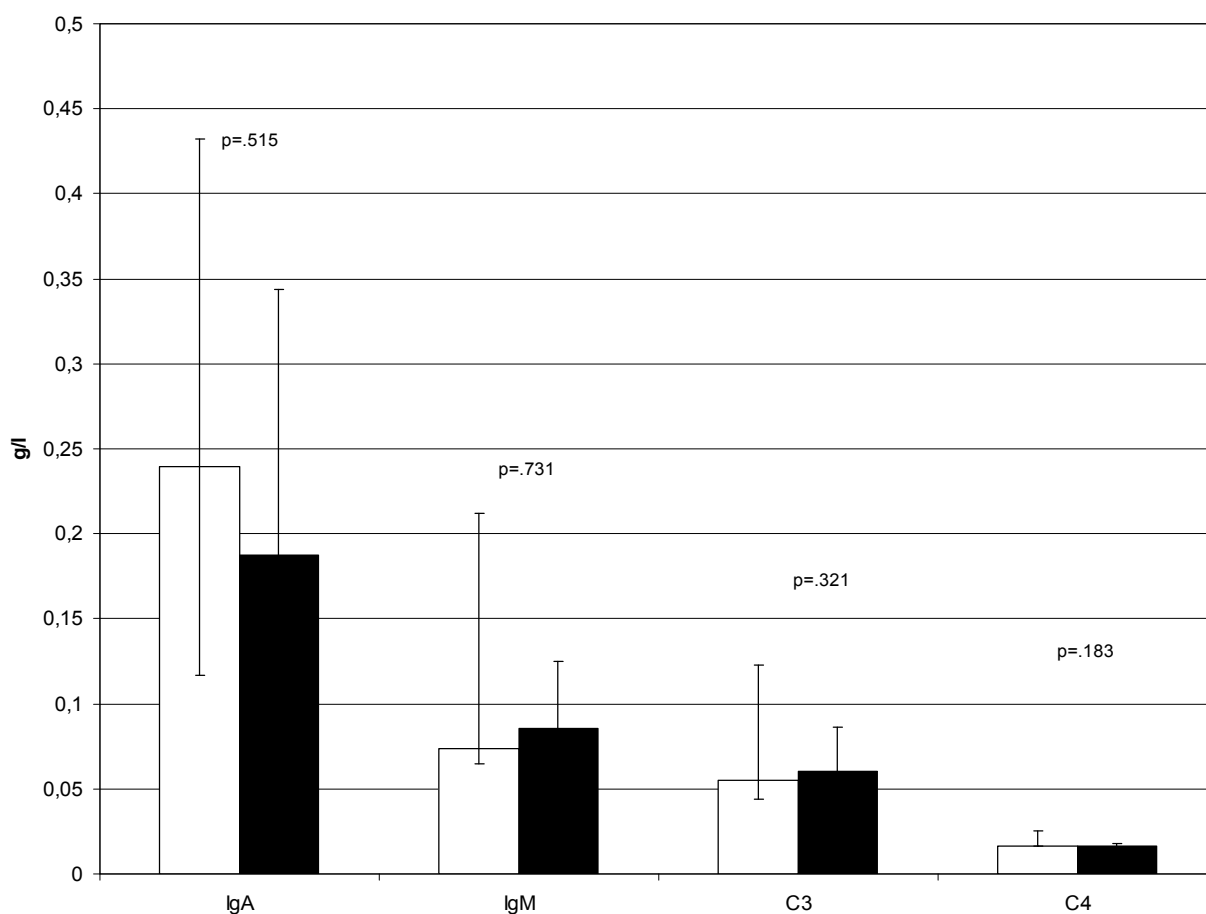
Amíg az albumin és az IgG koncentrációja minden mintában elérte a kimutathatóság mértékét, addig az IgA, IgM, C3 és C4 esetében csak a minták 98,8%, 68,1%, 68,1% és 38,6%-ában volt meghatározható a koncentráció. CRP egyetlen mintában volt jelen mérhető mennyiségben, így ennek további elemzésétől eltekintettünk. A vélőadék A/G értéke alapján képzett két csoportot az IgA, IgM, C3 és C4 vonatkozásában leíró statisztikai paramétereket foglalja össze az 5. táblázat.

5. táblázat. A vizsgált immunológiai fehérjék deskriptív statisztikai paraméterei a két fülvélőadék csoportban.

	A csoport A/G < 0,7					B csoport A/G > 0,7				
	Közép	SD	Medián	AK	FK	Közép	SD	Medián	AK	FK
IgA	0.347	0.305	0.239	0.117	0.432	0.291	0.261	0.187	0.127	0.343
IgM	0.126	0.093	0.073	0.065	0.212	0.118	0.096	0.085	0.066	0.125
C3	0.098	0.078	0.055	0.044	0.122	0.082	0.068	0.060	0.044	0.086
C4	0.021	0.009	0.016	0.016	0.025	0.019	0.010	0.016	0.014	0.018
IL-4	1.156	1.244	0.734	0.368	1.047	14.522	28.066	6.540	2.528	14.025
IL-10	2.521	4.894	0.840	0.407	1.236	31.409	43.055	13.256	4.470	48.182
IFN-γ	29.088	72.121	7.803	4.419	11.139	12.035	56.725	0.000	0.000	2.577
TNF-α	4.779	6.714	2.749	0.100	4.831	0.884	2.199	0.000	0.000	0.000

A/G, albumin és IgG koncentráció hányados; SD, standard deviáció; AK, alsó kvartilis; FK, felső kvartilis; IgA, immunglobulin-A; IgM, immunglobulin-M; C3, komplement faktor 3; C4, komplement faktor 4; IL, interleukin; IFN, interferon; TNF, tumor nekrozis faktor. Az IgA, IgM, C3 és C4 koncentráció értékek g/l; az IL-4, IL-10, TNF- α és IFN- γ koncentráció értékek pg/ml egységben vannak megadva.

Nem találtunk statisztikailag szignifikáns eltérést a két váladékcsoport IgA, IgM, C3 és C4 koncentrációja között (3. ábra).

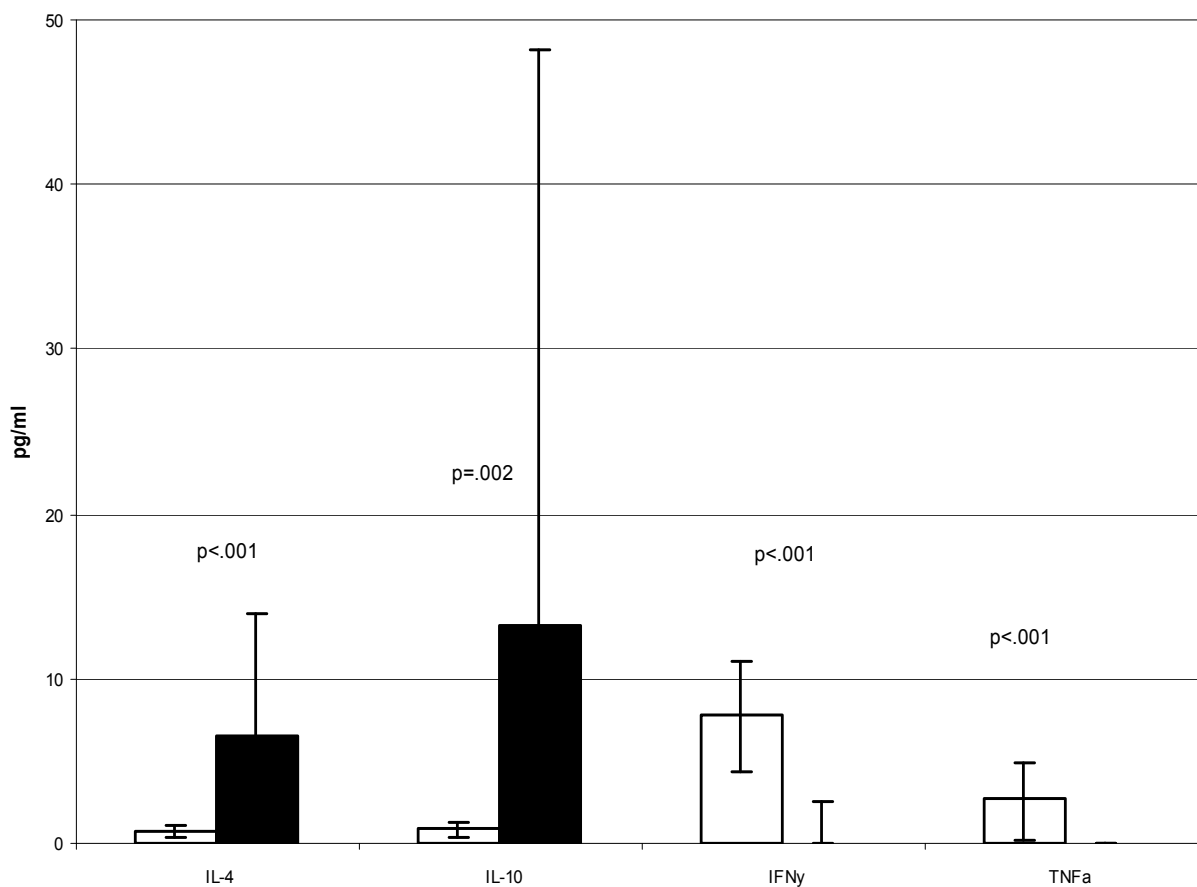


3. ábra. Az A ($A/G < 0,7$; fehér oszlop) és B ($A/G > 0,7$; fekete oszlop) váladékcsoportot jellemző IgA, IgM, C3 és C4 koncentrációk (medián és kvartilisek). Az oszlopok felett a feltüntetett szignifikancia érték (p) az egyes fehérjék vonatkozásában nem mutat különbséget a két csoport között.

5.1.3. A két váladékcsoport citokin összetételének összehasonlítása

A két fülvadász csoport citokin összetételének összehasonlítása statisztikailag szignifikáns eltérést igazolt (4. ábra). Az A csoportot a $TNF-\alpha$ (A csoport 2,75 pg/ml; B csoport 0,0001 pg/ml; $p < 0,001$) és az $IFN-\gamma$ (A csoport 7,80 pg/ml; B csoport 0,0001 pg/ml; $p < 0,0001$) szignifikánsan magasabb koncentrációja jellemzi. A B csoportban az IL-4 (B csoport 6,54 pg/ml; A csoport 0,73 pg/ml; $p < 0,001$) és az IL-10 (B csoport 13,26 pg/ml; A csoport 0,84 pg/ml; $p = 0,019$) a szignifikánsan domináns citokin. Igen erős korrelációt találtunk a vizsgált citokinek koncentrációja és az A/G érték között, pozitív összefüggést az

IL-4 ($r = 0,58$) és IL-10 ($r = 0,36$), valamint negatív korrelációt az IFN- γ ($r = -0,62$) és a TNF- α ($r = -0,66$) között.



4. ábra. Az A ($A/G < 0,7$; fehér oszlop) és B ($A/G > 0,7$; fekete oszlop) váladékcsoport gyulladásos citokin koncentrációi (medián és kvartilisek). IL, interleukin; IFN, interferon; TNF, tumor nekrozis faktor. Az oszlopok felett a feltüntetett szignifikancia értékek (p) jelzik a két csoport közötti citokin összetétel különbségét.

5.1.4. A két váladékcsoport összehasonlítása a betegek klinikai adatai alapján

A krónikus szerózus középfülgyulladás lefolyását jellemző anamnesztikus adatok (a korábbi adenotómiák illetve ventilációs tubus beültetések száma) vonatkozásában a két váladékcsoport között nem találtunk statisztikailag szignifikáns eltérést (6. táblázat). Összehasonlítva a korábban adenotómián és/vagy ventilációs tubus beültetésen már átesett illetve át nem esett betegcsoportokat nem találtunk statisztikailag szignifikáns összefüggést a fülvázadék egyetlen vizsgált fehérjekomponense vonatkozásában sem.

6. táblázat. A fülvadás albumin és IgG koncentráció hányadosa (A/G) alapján képzett két csoportba sorolt gyermekek klinikai jellemzői.

Betegcsoportok	A csoport A/G < 0,7 (n=13)	B csoport A/G >0,7 (n=43)	Sign.
Klinikai jellemzők			
Demográfiai jellemzők			
Életkori átlag (szélsőértékek) években	4,3 (2-7)	5,4 (2-9)	p=0,07
Nem (férfi/nő)	5/8	16/27	p=0,83
Klinikai jellemzők			
Korábbi adenotómiák száma	4/13 (30,8%)	19/43 (44,2%)	p=0,39
Korábbi ventillációs tubus beültetések száma	1/13 (7,7%)	7/43 (16,3%)	p=0,44

n= betegszám, p= szignifikancia szint

5.2. A középfülvadás virológiai vizsgálatai során nyert eredményeink

5.2.1. Vírus pozitív középfül vadas minták

A vizsgált 75 váladékmintából 26 esetben (34,7%) volt kimutatható virális nukleinsav jelenléte; 22 váladékban (29,3%) enterovírus, 10 váladékban (13,3%) rhinovírus és 2 esetben (2,7%) bocavírus. A két HBoV pozitív minta kópiaszámai: a mukózus váladékban 4,4 HBoV genom kópia/ml, a szerózus váladékban 596 kópia/ml. A 26 vírus pozitív mintából 19-ben csak egyetlen vírus volt kimutatható; 15 mintában (78,9%) enterovírus, háromban (15,8%) rhinovírus és egyben (5,3%) bocavírus. Hat mintában kettős vírusfertőzést igazoltunk (rhinovírus és enterovírus együtt) és egy váladékban mindhárom vizsgált vírus genetikai anyagát detektáltuk.

5.2.2. A középfülvadás viszkózitása és vírus pozitivitás

A váladék viszkózitása alapján a mintákat két csoportba, szerózus és mukózus csoportba soroltuk (7. táblázat). A mukózus váladék esetén a vírus pozitív minták aránya

(kivéve a bocavírust) magasabb volt, mint a szerózus csoportban, bár a statisztikai próba nem igazolt a két csoport között szignifikáns különbséget.

7. táblázat. Vírus pozitív minták száma a középfülvályadék viszkózitása alapján képzett két (szerózus és mukózus) váladékcsoportban.

Minták száma \	Összes (n=75)	Szerózus (n=36)	Mukózus (n=39)	P
Pozitív minták	26 (34,7%)	10 (27,8%)	16 (41,0%)	0,168
Egyetlen vírus	19 (25,3%)	8 (22,2%)	11 (28,2%)	0,372
Kettős fertőzés	6 (8,0%)	1 (2,8%)	5 (12,8%)	0,119
Mindhárom vírus	1 (1,3%)	1 (2,8%)	0 (0,0%)	0,480
Rhinovírus pozitív	10 (13,3%)	2 (5,6%)	8 (20,5%)	0,057
Enterovírus pozitív	22 (29,3%)	9 (25,0%)	13 (33,3%)	0,296
Bocavírus pozitív	2 (2,7%)	2 (5,6%)	0 (0,0%)	0,227

Szignifikancia szint: $P \leq 0.05$

5.2.3. Kétoldali krónikus szerózus középfülgyulladás és a váladék vírus pozitivitása

Huszonegy (39%) gyermeknél diagnosztizáltunk kétoldali OMCCS-t, míg 33 esetben (61%) egyoldali volt a betegség. A 21 kétoldali betegségben szenvedő gyermek felénél (12 eset; 57%) adott a vírusizolálás a két fül vonatkozásában azonos eredményt: 8 esetben mindhárom vizsgált vírusra negatív lett, míg 3 gyermeknél a kétoldali váladékpár enterovírusra, 1 gyermeknél rhino- és enterovírusra volt pozitív (8. táblázat). Nem volt olyan gyermek, akinél a váladékpárból eltérő vírusok lettek volna kimutathatók. Kilenc gyermeknél (43%) az egyik oldali váladék vírus negativitása mellett a másik oldali váladékban 1 esetben rhinovírus, 5 esetben enterovírus, 2 esetben rhino- és enterovírus együtt és 1 esetben mindhárom vírus jelen volt.

8. táblázat. Kétoldali OMCCS-ban szenvedő gyermekek (n=21) szám szerinti megoszlása a fülvélő párak virológiai vizsgálati eredménye alapján, ahol a sorok az egyik oldali, az oszlopok a kontralaterális fül eredményét mutatják.

Egyik fül		Negatív	RV pozitív	EV pozitív	RV + EV pozitív	RV + EV + BV pozitív	Összesen
Kontralaterális fül							
Negatív		8 (38,1%)					8 (38,1%)
RV pozitív		1 (4,8%)	0				1 (4,8%)
EV pozitív		5 (23,8%)	0	3 (14,3%)			8 (38,1%)
RV+EV pozitív		2 (9,5%)	0	0	1 (4,8%)		3 (14,3%)
RV+EV+BV pozitív		1 (4,8%)	0	0	0	0	1 (4,8%)
Összesen		17 (80,9%)	0	3 (14,3%)	1 (4,8%)	0	21 (100,0%)

RV, rhinovírus; EV, enterovírus; BV, bocavírus.

5.3. Az OMCCS betegcsoport jellemzése az allergológiai vizsgálatok alapján

5.3.1. Allergológiai anamnézis

Az 52 gyermekből 15-nél (28,8 %) szerepelt az anamnézisben már korábban diagnosztizált allergiás megbetegedés; 3 esetben allergiás rhinitisz és asztma együttesen, 3 esetben allergiás rhinitisz önmagában, 2 esetben asztma önmagában, 3 esetben tehéntej allergia, 2 esetben tojás allergia, 2 esetben atópiás dermatitisz; míg további 3 (5,8%) gyermeknél a tünetek alapján valószínűsíthető volt allergiás megbetegedés. 34 (65,4%) gyermeknél az allergológiai anamnézis negatív volt (9. táblázat).

5.3.2. Prick teszt

A 18 (34,6%) Prick teszt pozitivitást mutató gyermeknél átlagosan 2,6 (1 és 8 között) allergénnel (allergéncsoporttal) szemben igazolódott hyperszenzitivitás, melyek közül a

leggyakoribbak a háziporatka (66,6%), a parlagfű (44,4%), a gabona keverék (33,3%) és a penészgomba keverék (27,7%) voltak.

9. táblázat. OMCCS diagnózissal kezelt 52 gyermek allergológiai vizsgálatának eredményei.

	Pozitív	Negatív
Allergológiai anamnézis	18 (34,6%)	34 (65,4%)
Prick teszt	18 (34,6%)	34 (65,4%)
Szérum össz-IgE koncentráció	5 (9,6%)	47 (90,4%)
Allergén specifikus IgE pozitivitás	35 (67,3%)	17 (32,7%)

A szérum össz-IgE 120 kU/l határérték felett pozitív. Az allergén specifikus IgE ≥ 2 pozitivitási osztályba sorolás esetén pozitív.

5.3.3. Szérum össz-IgE koncentráció

A szérum össz-IgE koncentrációja csak 5 (9,6%) gyermeknél haladta meg a referencia értéket.

5.3.4. Allergén specifikus IgE pozitivitás

A gyermekek 2/3-ánál (35 eset, 67,3%) igazolódott allergén specifikus IgE pozitivitás.

5.3.5. OMCCS betegcsoport és a kontrollcsoport összehasonlítása az allergén specifikus IgE vizsgálatok eredményei alapján

Az OMCCS betegcsoportban a kontrollcsoporthoz viszonyítva mind az inhalatív, mind a nutritív allergének vonatkozásában szignifikánsan gyakoribb volt az allergén specifikus IgE pozitivitása (10. táblázat).

10. táblázat. Inhalatív és nutritív allergén specifikus IgE pozitivitást mutató gyermekek száma és százalékos aránya az *otitis media catarrhalis chronica serosa* (OMCCS) betegcsoportban és a kontrollcsoportban.

	OMCCS betegcsoport n=52	Kontrollcsoport n=818	P érték
Inhalatív allergének	19 (36,5%)	114 (13,9%)	< 0,001
Nutritív allergének	27 (51,9%)	141 (17,2%)	< 0,001

P=szignifikancia, N=esetszám

Az inhalatív és a nutritív allergén specifikus IgE-k előfordulási gyakoriságát mutatja a 11. és a 12. táblázat. A vizsgált 40 inhalatív és 40 nutritív allergén specifikus IgE-ből a 10-10 leggyakrabban előfordulóra a nem szezonális allergének dominanciája jellemző.

11. táblázat. Inhalatív allergén specifikus IgE-k előfordulási gyakorisága otitis media catarrhalis chronica (OMCCS) betegcsoportban és a kontrollcsoportban.

	OMCCS betegcsoport n=52		Kontrollcsoport n=818	
Sorszám	Név	%	Név	%
1	Poratka (D. Farinae) (d2)	11,5	Poratka (D. Pteronys) (d1)	15,4
2	Poratka (D. Pteronys) (d1)	7,7	Poratka (D. Farinae) (d2)	15,1
3	Konodiumos gomba (m6)	5,8	Kannapénész (m3)	14,5
4	Kannapénész (m3)	5,8	Szarvasmarha hám (e4)	8,8
5	Macska hámszövet (e1)	5,8	Csirketoll (e85)	7,7
6	Élesztőgomba (m5)	3,8	Parlagfű (w1, w3)	5,7

7	Ecsetpenész (m1)	3,8	Ló hámantigén (e3)	4,0
8	Disznóparéj (w14)	3,8	Konídiumos gomba (m6)	3,7
9	Szarvasmarha hám (e4)	3,8	Fekete üröm (w6)	2,8
10	Parlagfű (w1, w3)	3,8	Libatoll (e70)	2,6

12. táblázat. Nutritív allergén specifikus IgE-k előfordulási gyakorisága otitis media catarrhalis chronica serosa (OMCCS) betegcsoportban és a kontrollcsoportban.

Sorszám	OMCCS betegcsoport n=52		Kontrollcsoport n=818	
	Név	%	Név	%
1	Kukorica (f8)	15,4	Tojásfehérje (f1)	34,2
2	Báránycsont (f88)	13,5	Tehéntej (f2)	21,0
3	Tehéntej (f2)	13,5	Búzaliszt (f4)	3,1
4	Bab (f15)	9,6	Banán (f92)	2,9
5	Kazein (f78)	9,6	Földimogyoró (f13)	2,5
6	Tojásfehérje (f1)	9,6	Füge (f402)	2,5
7	Foghagyma (f47)	9,6	Őszibarack (f95)	2,3
8	Burgonya (f35)	9,6	Szójabab (f14)	1,9
9	Mandula (f20)	7,7	Bab (f15)	1,6
10	Paradicsom (f25)	7,7	Sárgabarack (f237)	1,4

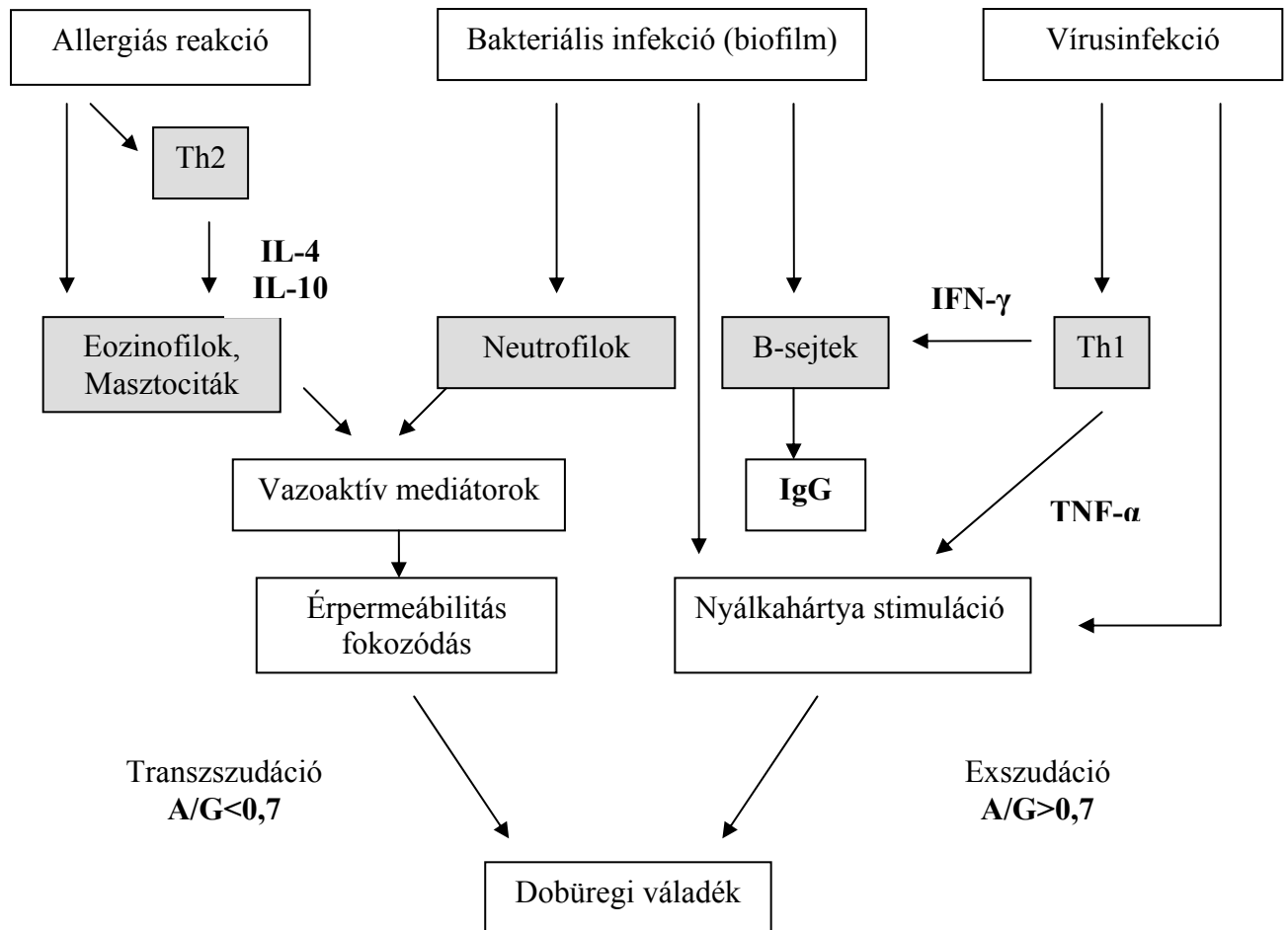
6. Megbeszélés

A gyermekkori *otitis media catarrhalis chronica serosa* esetében a dobüregi váladék képződése és hosszan tartó perzisztálása egy komplex, minden részletében máig tisztázatlan, immunológiai alapokon nyugvó gyulladásos folyamat következménye⁴⁵. A klasszikus fülkürt funkciózavar teória pusztán mechanikus szemléletével szemben az újabb kutatási eredmények felső légúti patogén vírusfertőzések, és lokálisan zajló allergiás reakciók kóroki szerepét igazolják²⁹. A kiváltó stimulustól függetlenné váló közös út a dobüregi mukózában zajló gyulladásos folyamat, amit aktivált gyulladásos sejtek és azok gyulladásos mediátorai tartanak fenn. A dobüregi váladék összetevőinek (akár gyulladásos mediátorok és sejtek, akár víruspartikulumok tekintetében) és a beteg szervezet egészének (allergiás állapot) vizsgálata a dobüregi váladékképződés folyamatának jobb megértését segíthetik elő.

A dobüregi váladék gyulladásos fehérjéinek vizsgálatával nyert eredményeink a váladékok elkülönítését teszik lehetővé azok fehérje összetétele alapján, ahol a csoportokat más feltételezett patomechanizmus jellemzi. A váladék albumin és immunglobulin-G koncentráció aránya alapján két, egymástól markánsan különböző váladékcsoportot különítettünk el.

Az $A/G > 0,7$ csoportra a váladék emelkedett albumin koncentrációja jellemző. Mivel az albumin kizárólag a májsejtekben termelődik, azok megjelenése dobüregi váladékban a dobüri nyálkahártya kapillárisain keresztül megvalósuló transzszudációs folyamat eredménye. Emelkedett albumin koncentráció fokozott érpermeabilitást és következményes fokozott albumin extravazációt jelez²⁶. Az érpermeabilitás fokozódás vazoaktív gyulladásos mediátorok, úgymint hisztamin, prosztaglandinok, aktivált komplementek, arachidonsav metabolitok illetve immunkomplexek hatására jön létre. Ezen mediátorokat granulociták termelik és juttatják az intersticiális térbe; részben bakteriális fertőzés által aktivált neutrofil granulociták, részben pedig lokális allergiás reakció során felhalmozódott eozinofil granulociták és mastociták²⁰. Ezen gyulladásos sejtek jelenlétét a dobüregi nyálkahártyában illetve a dobüregi váladékban hisztológiai és biokémiai vizsgálatok igazolták⁴⁶. Amin és mtsai immunhisztokémiai módszerrel mutatták ki aktivált neutrofil és eozinofil granulociták jelenlétét a dobüregi nyálkahártyában³. Hurst és Verge sejt-specifikus enzimek (mieloperoxidáz, eozinofil kationos protein és triptáz) aktivitás mérésével igazolta neutrofilok, eozinofilok és masztociták jelenlétét a dobüregi váladékban^{20,21}. Ezen gyulladásos sejtek citokinek, többek között IL-4 és IL-8, hatására aktiválódnak; enzimeket,

kemoattraktáns citokineket és vazoaktív fehérjéket juttatva környezetükbe²¹. Az $A/G > 0,7$ csoportban a tapasztalt magas albumin koncentráció azt jelzi, hogy a váladékképződésben meghatározó jelentőséggel bíró folyamat az érpermeabilitás növekedése miatt fellépő fokozott transzszudáció (5. ábra).



5. ábra. A dobüregi váladék képződésének patomechanizmusa transzszudációs és exszudációs úton. Th, T-helper sejt; IgG, immunglobulin-G; A/G, albumin és immunglobulin-G koncentráció hányados; IL, interleukin; TNF, tumor nekrosis faktor; IFN, interferon

A másik váladékcsoportban, ahol az $A/G < 0,7$ a dobüregi váladék exszudációs folyamat eredménye. A csoportot jellemző alacsony albumin koncentráció normális mikrovaskuláris permeabilitást jelez. Ez a váladéktípus nagyobb számú T-, és B-sejttel, monocyta-macrofággal és az aktivált B-sejtek által termelt nagyobb mennyiségű immunglobulin-G-vel jellemezhető (5. ábra).

A citokinek jelenléte a dobüregi váladékban és szerepe annak képződésében széles körben vizsgált az irodalomban. A váladék citokin összetétele jelzi a gyulladásos folyamat jellegét és a váladékképződés mechanizmusát. Vizsgálatunk során szignifikáns összefüggést találtunk a váladék A/G aránya és a citokin koncentrációja között. Alacsony A/G érték emelkedett TNF- α és IFN- γ szinttel társul, míg magas A/G érték esetén az IL-4 és IL-10 a domináns citokin.

A proinflammatorikus citokin TNF- α a középfülfertőzések esetén gyors és hatékony immunstimulánsként hat, elsősorban makrofágok és Th1 limfociták termelik^{26,53}. Az IFN- γ a B-sejtek differenciálódását és immunglobulin termelését támogató immun-regulatórikus citokin⁵³. Jól ismert tény, hogy a TNF- α és az IFN- γ a lokális gyulladásos folyamat kezdeti fázisában, annak beindításában játszik fontos szerepet³⁶. Az interleukin-4 egy allergiás folyamathoz kapcsolódó citokin, amit elsősorban a Th2 sejtek termelnek, és hatásuk a B sejtek proliferációjának stimulálásában nyilvánul meg²². Az IL-10-et szintén az aktivált Th2 sejtek termelik, és a gyulladásos folyamatok elnyúlásában, krónikusba hajlásában van szerepük, mivel erős gátló hatást fejtenek ki a TNF- α és IL-1 β termelésre⁴⁴. Az IL-4 és IL-10 jelenlétét a gyulladásos folyamat elhúzódása, krónikussá válása jeleként tartjuk számon⁶.

A dobüregi váladék citokin összetételének vizsgálata alapján valószínűsítjük, hogy az A/G<0,7 csoportban a proinflammatorikus citokinek (TNF- α és IFN- γ) magas koncentrációja fokozott B és Th1 sejt aktivitást jelez. Ezzel szemben a másik, a magas albumin koncentrációval jellemzett váladékcsoportban az emelkedett IL-4 és IL-10 aktivált Th2 limfociták jelenlétére utal. Az előbbi csoportot hipotetikusán az OMCCS szekretoros formájával azonosítjuk, míg az utóbbinál a korábbi akut gyulladás után visszamaradó folyadékgyülemmel jellemezhető forma véleményezhető. Az a tény, hogy a minták negyötöde az A/G<0,7 csoportba tartozik, amely kialakulás alapján csökkent fülkürt működést jelent, magyarázhatja azt a klinikai megfigyelést, hogy a preoperatív otomikroszkópos vizsgálatok során a dobhártyát behúzódottnak találtuk.

Virológiai vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy az OMCCS-ban szenvedő gyermekek fülváladékából az esetek 34,7%-ban kimutatható respiratórikus vírus nukleinsav PCR vizsgálattal. Gyakorisági sorrendben az enterovírusok (29,3%), majd a rhinovírusok (13,3%) végül a human bocavírus (2,7%) fordult elő a mintákban. A vírus pozitív fülváladékokban leggyakrabban enterovírust (78,9%), majd rhinovírust (15,8%), és csak igen csekély százalékban (5,3%) bocavírust mutattunk ki.

A mintáinkat jellemző jelentős rhinovírus pozitivitás egybevág az irodalmi adatokkal^{10,39}. A rhinovírusok gyakori kimutathatósága a középfülvándékból felveti azok kóroki szerepét az OMCCS kialakulásában. Az sem zárható ki azonban, hogy a két kórfolyamat ok-okozati összefüggés nélkül pusztán egyidejűleg és együttesen zajlik a középfülben. Egy lezajlott rhinovírus fertőzés a vírus genom perzisztálása miatt akár 8 hétig is kimutatható marad PCR-rel, így ha a gyermek hetekkel a mintavétel előtt átesett egy rhinovírus fertőzésen, a koincidencia lehetősége nem zárható ki³⁹. Saját eredményeink interpretálásának egyik bizonytalanságát éppen az adja, hogy nem minden esetben állt rendelkezésünkre elegendő információ a műtétet megelőző teljes 8 hét felső légúti hurutos anamnézisének illetően. A rhinovírus fertőzés és az OMCCS összefüggésének értékelését az a tény is nehezíti, hogy – főleg a hideg és nedves hónapokban – nehéz lenne olyan gyermeket találni, aki 8 héten keresztül ne esne át valamilyen felső légúti hurutos betegségen.

Saját eredményeink alacsonyabb rhinovírus előfordulást mutatnak a fülvándékban, mint a korábbi adatok. Ez részben azzal magyarázható, hogy a korábban alkalmazott metodikával, az 5' nem kódoló régióknak megfelelő primer használatával nem voltak elkülöníthető egymástól a rhino- és enterovírusok, és együttes kimutatásuk után az értékeléskor összesósódtak az egyes vírusok arányai. Fontos megjegyezni azonban, hogy az enterovírus RNS célzott kimutatása esetén Chantzi a vizsgált 37 középfülvándékból csak egy esetben észlelt pozitivitást¹⁰. Vele szemben saját anyagunkban az enterovírus prevalenciája igen magas, 29,3% volt. A vírus nukleinsav kimutathatósága a középfülvándékban azonban nem feltétlenül jelent ok-okozati összefüggést a vírusfertőzés és a fennálló középfülbetegség között.

A humán bocavírust 2005-ben Svédországban fedezték fel nem specifikus genom amplifikáció és széles skálájú szekvenálási technika alkalmazásával¹. A HBoV elsősorban gyermekkori akut légúti fertőzések során került gyakran izolálásra²³, a krónikus gyulladásos folyamatot képviselő OMCCS-val való kapcsolata eddig nem volt ismert. Munkacsoportunk elsőként izolált OMCCS fülvándékból a HBoV-t. Az általunk észlelt alacsony prevalencia (2 pozitív minta a vizsgált 75-ből; 2,7%) magyarázható a vizsgált kórkép krónikus jellegével, hiszen akut gyulladásos légúti vándék esetén is a HBoV kimutathatósága nem éri el a 8%-os prevalenciát⁴. Az esetek több mint felében a HBoV koincidenciát mutat más légúti patogén vírusokkal³⁰, például kórházban ápolt HBoV pozitív gyermekek esetén az adenovírus együttes előfordulása 69% volt¹⁷. Saját anyagunkban egy szimpla és egy tripla fertőzést észleltünk. Érdeemes megjegyezni, hogy a HBoV genom perzisztálása miatt nem minden PCR pozitív gyermek mutat akut légúti tüneteket²⁴.

Érdekes megfigyelésünk, hogy nagyobb arányban észleltünk vírus pozitív mintákat a mukózus típusú váladékok esetén, mint a szerózus csoportban. Experimentális vizsgálat igazolja, hogy a dobüregi mukózából származó epitéliális sejtenyészlet inflammatórikus citokinek (pl. TNF- α) hatására fokozott mukopoliszacharid termelést mutat²⁷. Jól ismert tény, hogy a virális nukleoproteinek hatékonyan stimulálják a gyulladásos T-sejteket TNF- α , és más proinflammatórikus citokinek termelésére. A fent vázolt folyamat magyarázhatja, hogyan vezethet egy perzisztáló dobüregi vírusfertőzés nagyobb viszkozitású váladék termelődéséhez.

Nagyszámú klinikai epidemiológiai vizsgálat igazolja az OMCCS és az allergia gyakori együttes előfordulását.

Az OMCCS-s betegcsoportban legnagyobb gyakorisággal (28-89%)^{2,9,19,54} az allergiás rhinitisz társulását írták le, ezt követi az allergiás asztma (21-36%)^{2,19}, majd az atópiás dermatitisz (10-24%)^{2,9}. Betegeink anamnesztikus adatai alapján észlelt prevalencia kissé alatta marad az irodalmi adatoknak: allergiás rhinitisz 11,5% (6 eset), asztma 9,6% (5 eset) és dermatitisz 3,8% (2 eset), sőt allergiás rhinitisz esetében a populációra jellemző becsült átlagértéket (20%)² sem éri el. Érdekes megjegyezni, hogy Yeo és mtsai 123 OMCCS beteg és 141 egészséges gyermek esetében az allergiás rhinitisz prevalenciáját tekintve a beteg és kontrollcsoport között nem talált eltérést (28,4% és 24,1%)⁵⁴.

Az allergiás bőrteszt során tapasztalt 34,6%-os pozitivitási arányunk illeszkedik az irodalmi adatokhoz, ahol ez 24%³² és 100%¹⁹ közötti értékeket vesz fel. Saját vizsgálatunkkal megegyezően Hurst és mtsai is leggyakrabban a háziporátka esetében észleltek Prick teszt pozitivitást¹⁹.

Saját beteganyagunkban mindössze 5 gyermeknél (9,6%) észleltünk emelkedett szérumszintű össz-IgE koncentrációt. Alles és mtsai a vizsgált 209 gyermek 28%-ánál véleményeztek pozitivitást, bár a határértéket alacsonyabb szérumszintű össz-IgE koncentrációban, 100 kU/l-ben határozták meg². A szérumszintű össz-IgE mérésének jelentőségét kérdőjelezi meg Coulson és mtsai valamint Yeo és mtsai eredményei, akik az egészséges kontrollcsoport és az OMCCS betegcsoport között a szérumszintű össz-IgE szintjében nem találtak eltérést^{12,54}. Ezt erősíti meg Hurst eredménye, ahol 97 OMCCS gyermekből álló betegcsoport atópiás és nem atópiás alcsoportja között sem igazolódott eltérés a szérumszintű össz-IgE koncentrációjában²⁰. Palva szükségtelennek véli OMCCS esetén a szérumszintű össz-IgE koncentrációjának rutinszerű meghatározását, mivel a vizsgálat 19 OMCCS gyermek mindegyikénél normális szérumszintű össz-IgE szintet talált³⁷.

Az allergén specifikus IgE kimutatás alapján az általunk vizsgált 52 gyermek 2/3-a (67,3%) igazolódott allergiásnak. Hasonló magas arányt közöl Hurst (81%)²⁰ és Nsouli (78%)³⁴. Saját beteganyagunkban mind összesen, mind pedig külön az inhalatív és külön a nutritív allergének esetében is, az allergén specifikus IgE koncentráció a kontrollcsoporthoz viszonyítva szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,001$). Coulson és mtsai a leggyakrabban előforduló háziporátka elleni specifikus IgE előfordulási gyakoriságát 13%-nak találták¹², amely hasonló a betegcsoportunk 11,5 és kontrollcsoportunk 15,1%-os értékével.

Az OMCCS és a különféle allergiás megbetegedések illetve a pozitív allergológiai vizsgálati leletek gyakori együttes jelenléte az allergia pozitív OMCCS betegcsoportban valószínűsíti a hiperszenzitivitási reakció kóroki szerepét a dobüregi folyadékgyülem kialakulásában. Felvetődik a kérdés, hogy vajon az OMCCS valamely távolabbi szövetben zajló allergiás gyulladás szövődménye, vagy priméren a dobüregi mukózában zajló folyamat következménye. Marseglia szerint az allergiás rhinitisz és az adenoiditis szerózus otitis kialakulásához vezető tényezők, melyek potenciózzák egymás hatását³¹. Ésszerű gondolatmenet, hogy allergiás rhinitisz esetén az orr nyálkahártyájában a gyulladásos sejtekből felszabaduló mediátorok a mukociliáris aktivitás révén passzívan az Eustach-kürt orrgarati szájadékába szállítódnak, majd a lokális hatásukra fellépő gátolt fülkürt működés eredményezi a dobüregi váladék megjelenését⁵. Ezen passzív mechanizmus mellett azonban a dobüregi nyálkahártyában zajló aktív gyulladásos folyamatok szerepe is igazolódott. Nguyen és mtsai 45 OMCCS-s gyermek dobüregi váladékának és orrgarati biopsziájának vizsgálatával kimutatták, hogy allergiás gyermekek esetében a mintapárok mindegyikére emelkedett eozinofil, T limfocita és IL-4 mRNS-t tartalmazó sejtszám, valamint csökkent neutrofil és IFN- γ mRNS-t tartalmazó sejtszám jellemző³². A fenti sejt és citokin összetétel az allergiás gyulladásra jellemző aktív Th2 mediálta immunfolyamatot jelez, és mivel a fülkürt mindkét végén jelen van, azt igazolja, hogy a dobüregi mukózában ugyanolyan allergiás gyulladásos folyamatok zajlanak, mint a felső légúti nyálkahártyában allergiás rhinitisz esetén³¹. Hurst vizsgálati eredményei megerősítik a lokálisan zajló Th2 mediált immunválasz teóriát: OMCCS-s allergiás gyermekeknél a dobüregi váladékban megemelkedett a gyulladásos sejt specifikus enzimek (eozinofil kationos protein, triptáz) aktivitása, amely a Th2 válaszhoz elengedhetetlen eozinofil sejt és masztocita fokozott jelenlétére utal²⁰. Tewfik kiemeli, hogy szoros kapcsolat van allergiás betegség esetén a dobüregi nyálkahártyában és a többi felső légúti nyálkahártyában zajló gyulladásos folyamatok között⁵¹.

7. Új eredmények összefoglalása

Az *otitis media catarrhalis chronica serosa* kialakulását előidéző kóroki tényezők illetve a kialakulásához vezető kórfolyamatok vizsgálata során a következő új megállapításokat tettük.

Ad 1). Felismertük, hogy a dobüregi váladék albumin és immunglobulin-G koncentráció aránya alapján a minták két, egymástól markánsan elkülöníthető csoportba sorolhatók. A két csoportot eltérő citokin összetétel és eltérő feltételezett kórfolyamat jellemzi. A magas albumin koncentráció mellett az inflammatorikus citokinek (IL-4 és IL-10), alacsony hányados esetén pedig a proinflammatorikus citokinek (TNF- α és IFN- γ) dominanciája figyelhető meg. Az első csoportot a váladékképződés transzszudációs formája, a magas Th1 és granulocita szám, valamint a csökkent fülkürtműködés jellemzi, míg a második csoportban B- s Th2-sejt fokozott aktivitás mellett az exszudációs mechanizmus vezet váladék felhalmozódáshoz.

Ad 2). Elsőként mutattunk ki az OMCCS esetén perzisztáló dobüregi váladékból HBoV fertőzést. A HBoV alacsony prevalenciája (2,7%) alapján azonban nem állítható fel ok-okozati kapcsolat a két kórkép között.

Ad 3). Epidemiológiai vizsgálattal igazoltuk az OMCCS és az allergia gyakori együttes előfordulását, valamint azt, hogy az OMCCS esetén gyakoribb az allergia előfordulása, mint a normális kontrollcsoportban.

8. Összefoglalás

Bevezetés: A gyermekkori otitis media catarrhalis chronica serosa etiopatomechanizmusa máig tisztázatlan. A középfül üregrendszerét bélelő nyálkahártyában zajló krónikus gyulladásos folyamat (amely következményesen váladék felhalmozódásához és halláscsökkenés kialakulásához vezet) kialakításában és fenntartásában a fülkürt funkciózavar mellett korábban lezajlott, vagy inapparens bakteriális/virális fertőzések, valamint allergiás reakciók játszanak szerepet. *Betegek, anyagok és módszerek:* OMCCS diagnózissal műtéten átesett gyermekek dobüregi váladékának immunológiai és virológiai vizsgálatát, illetve a gyermekek allergológiai kivizsgálását végeztük el. A dobüregi váladék gyulladásos fehérjeit nefelometriás (albumin, immunglobulinok, c3, c4, CRP) illetve ELISA (IL-4, IL-10, IFN- γ , TNF- α) módszerrel vizsgáltuk. A váladékból a rhino-enterovírusokat reverz transzkripció – PCR – hibridizáció, a HBoV-t kvantitatív PCR technikával mutattuk ki. Az allergológiai kivizsgálás során Prick-tesztet végeztünk, illetve a szérum össz- és allergén specifikus IgE koncentrációját határoztuk meg. *Eredmények:* A váladék A/G alapján két csoportot tudtunk elkülöníteni, melyeket eltérő citokin összetétel jellemez: alacsony A/G értékhez a proinflammatorikus (IFN- γ és TNF- α), magas A/G értékhöz az inflammatorikus (IL-4, IL-10) citokinek dominanciája társul. A minták egyharmadából (75-ből 26 esetben) volt virális fertőzés igazolható. A HBoV infekció prevalenciája 2,7% volt. Mukózus váladék esetében nagyobb gyakorisággal észleltünk vírus pozitivitást. Prick-teszttel a gyermekek egyharmada allergiásnak bizonyult. Allergén specifikus IgE pozitivitást nagyobb arányban találtunk a betegcsoportban, mint a kontrollcsoportban. *Megbeszélés:* A magas A/G értékkel jellemezhető váladékok esetén a kapilláris permeabilitás fokozódása miatt fellépő transzszudációs folyamat vezet dobüregi váladék felhalmozódásához, melyet az IL-4 és IL-10 által stimulált granulocitákból felszabaduló vazoaktív mediátorok okoznak. Az alacsony A/G értékkel jellemzett csoport esetén a váladék felhalmozódáshoz a nyálkahártya aktív szekréciós folyamatai vezetnek, melyet részben a virális nukleoproteidek hatására termelődő proinflammatorikus citokinek stimulálnak. A légúti patogén vírusok kimutathatósága és az allergiás háttér nagyarányú együttes előfordulása megerősíti szerepüket a kórkép kialakulásában. *Kulcsszavak:* albumin; allergia; citokin; humán bocavírus; humán rhino-enterovírusok; immunglobulinok

Summary

Introduction: The precise etiopathogenesis of the otitis media with effusion (OME) still remains unclear. Factors involved in the chronic inflammatory process in the mucosal lining of the middle ear cleft (which leads to accumulation of the middle ear fluid and consequently a hearing loss) are the dysfunction of the Eustachian tube, inapparent bacterial/viral infections and local allergic reactions. *Patients and methods:* Immunological and virological analysis of the middle ear effusion (MEE) samples collected intraoperatively from OME children were carried out. Children were examined with allergic tests. Concentrations of inflammatory proteins in the MEE were measured by nephelometry (albumin, immunoglobulin, complement-3 and -4, CRP) and ELISA (IL-4, IL-10, IFN- α , TNF- α). Reverse transcription – polymerase chain reaction – in situ hybridisation was used to detect rhino-enteroviruses in the effusion. HBoV was identified with quantitative PCR. Allergic tests consisted of the skin Prick-test and the measurement of the total- and allergen specific IgE concentration in the serum. *Results:* Based on the ratio of the concentrations of albumin and immunoglobulin-G in the effusion (A/G) samples were separated into two distinct groups characterised by different cytokine profile: proinflammatory cytokines (TNF- α , IFN- γ) dominate samples with low A/G, whereas inflammatory cytokines (IL-4, IL-10) are associated with high A/G value. One third of the samples (26 of the total 75) were virus positive. The prevalence of HBoV infection was as low as 2.7%. Mucoïd samples were more frequently associated with virus infection. Allergy was established in one third of the children with Prick test. Allergen specific IgE positivity was more frequently diagnosed in the OME group than in the control group. *Discussion:* Accumulation of the MEE in the sample group characterised by high A/G value could be explained by transudation mechanism, where the increased capillary permeability is caused by vasoactive mediators from granulocytes stimulated by IL-4 and IL-10. Accumulation of MEE in the low A/G sample group could be a result of an active mucosal secretion which is partly activated by proinflammatory cytokines produced consequently of the stimuli of viral nucleoproteins. The presence of the human respiratory viruses in the MEE and the frequent coincidence of allergy and OME give an evidence of the importance of these diseases in the etiopathogenesis of OME. *Keywords:* albumin; allergy; cytokines; human bocavirus; human rhino-enteroviruses; immunoglobulin.

9. Irodalomjegyzék

9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B: Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA*, **102**:12891-6, 2005
2. Alles R, Parikh A, Hawk L, Darby Y, Romero JN, Scadding G: The prevalence of atopic disorders in children with chronic otitis media with effusion. *Pediatr Allergy Immunol*, **12**(2), 102-6, 2001
3. Amin K, Hurst DS, Roomans GM, et al.: Eosinophils and neutrophils in biopsies from middle ear of atopic children with otitis media with effusion. *Inflamm Res*, **48**:626-31, 1999
4. Arden KE, McErlean P, Nissen MD, Sloots TP, Mackay IM: Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections. *J Med Virol*, **78**:1232-40, 2006
5. Bernstein JM: The role of IgE-mediated hypersensitivity in the development of otitis media with effusion. *Otolaryngol Clin North Am*, **25**, 197-211, 1992
6. Bikhazy P, Ryan AF: Expression of immunoregulatory cytokines during acute and chronic middle ear response. *Laryngoscope*, **150**:629-34, 1995
7. Blomqvist S, Skyttä A, Roivainen M, Hovi T: Rapid detection of human rhinoviruses in nasopharyngeal aspirates by a microwell reverse transcription-PCR-hybridization assay. *J Clin Microbiol*, **37**:2813-6, 1999
8. Bluestone CD, Beery QC, Andrus WS: Mechanics of the Eustachian tube as it influences susceptibility to and persistence of middle ear effusion in children. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, **83**:27-34, 1974

9. Caffarelli C, Savini E, Giordano S, Gianlupi G, Cavagni G: Atopy in children with otitis media with effusion. *Clin Exp Allergy*, **28(5)**, 591-6, 1998
10. Chantzi FM, Papadopoulos NG, Bairamis T, Tsiakou M, Bournousouzis N, Constantopoulos AG et al.: Human rhinoviruses in otitis media with effusion. *Pediatr Allergy Immunol*, **17**:514-8, 2006
11. Chonmaitree T, Revai K, Grady JJ, Clos A, Patel JA, Nair S et al.: Viral upper respiratory tract infection and otitis media complication in young children. *Clin Infect Dis*, **46**:815-23, 2008
12. Coulson CJ, Drake-Lee AB, Plant T, Drayson MT: Total serum IgE and IgE antibodies specific to house dust mite found in two aged-matched cohorts of children with and without otitis media with effusion. *Clin Otolaryngol*, **31**:130-3, 2006
13. Ehrlich GD et al.: Mucosal biofilm formation on middle-ear mucosa in the chinchilla model of otitis media. *JAMA*, **287**:1710-15, 2002
14. Gates GA: Workshop on effects of otitis media on the child: socioeconomic impact of otitis media. *Pediatrics*, **71**:648-9, 1983
15. Gates GA: Cost-effectiveness considerations in otitis media treatment. *Otolaryngol Head Neck Surg*, **114**:525-30, 1996
16. Gates GA et al.: Effectiveness of adenoidectomy and tympanostomy tubes in the treatment of chronic otitis media with effusion. *N Eng J Med*, **31**:1444-51, 1987
17. Hindiyeh MY, Keller N, Mandelboim M, Ram D, Rubinov J, Regev L et al.: High rate of human bocavirus and adenovirus coinfection in hospitalized Israeli children. *J Clin Microbiol*, **46**:334-7, 2008
18. Honjo I: Eustachian tube and middle ear diseases. Tokyo, 1988, Spring-Verlag.

19. Hurst DS: Efficacy of allergy immunotherapy as a treatment for patients with chronic otitis media with effusion. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, **72(8)**:1215-23, 2008
20. Hurst DS, Verge P: Evidence of eosinophil, neutrophil, and mast-cell mediators in the effusion of OME with and without atopy. *Allergy*, **55**:435-41, 2000
21. Hurst DS, Verge P: The impact of atopy on neutrophil activity in middle ear effusion from children and adults with chronic otitis media. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, **128**:561-6, 2002
22. Jang CH, Kim YH: Characterization of cytokines present in pediatric otitis media with effusion: comparison of allergy positive and negative. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, **66**:37-40, 2002
23. Kahn J: Human bocavirus: clinical significance and implications. *Curr Opin Pediatr*, **20**:62-6, 2008
24. Kantola K, Hedman L, Allander T, Jartti T, Lehtinen P, Ruuskanen O et al.: Serodiagnosis of human bocavirus infection. *Clin Infect Dis*, **46**:540-6, 2008
25. Karevold G, Haapkyla J, Pitkaranta A, Nafstad P, Kvarner KJ: Paediatric otitis media surgery in Norway. *Acta Oto-Laryng*, **127**:29-33, 2007
26. Lee DH, Park YS, Jung TTK, et al.: Effect of tumor necrosis factor- α on experimental otitis media with effusion. *Laryngoscope*, **111**:728-33, 2001
27. Lin J, Kim Y, Juhn SK: Increase of mucous glycoprotein secretion by tumor necrosis factor alpha via a protein kinase C-dependent mechanism in cultured chinchilla middle ear epithelial cells. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, **107**:213-9, 1998
28. Lous J, Burton MJ, Felding JU, Ovesen T, Rovers MM, Williamson I: Grommets (ventilation tubes) for hearing loss associated with otitis media with effusion in children. *Otolaryngol Head Neck Surg*, **135(4)**:507-10, 2006

29. Makela MN, Teppo AM, Meri S: Complement C3 cleavage and cytokines interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α in otitis media with effusion. *Laryngoscope*, **110**:1745-9, 2000
30. Manning A, Russell V, Eastick K, Leadbetter GH, Hallam N, Templeton K et al.: Epidemiological profile and clinical associations of human bocavirus and other human parvoviruses. *J Infect Dis*, **194**:1283-90, 2006
31. Marseglia GL, Pagella F, Caimmi D, Caimmi S, Castellazzi AM, Poddighe D, Klersy C, Ciprandi G: Increased risk of otitis media with effusion in allergic children presenting with adenoiditis. *Otolaryngol Head Neck Surg*, **138(5)**:572-5, 2008
32. Nguyen LH, Manoukian JJ, Sobol SE, Tewfik TL, Mazer BD, Schloss MD, Taha R, Hamid QA: Similar allergic inflammation in the middle ear and the upper airway: evidence linking otitis media with effusion to the united airways concept. *J Allergy Clin Immunol*, **114**:1110-5, 2004
33. Nokso-Koivisto J, R  ty R, Blomqvist S, Kleemola M, Syrj  nen R, Pitkäranta A, Kilpi T, Hovi T: Presence of specific viruses in the middle ear fluids and respiratory secretions of young children with acute otitis media. *J Med Virol*, **72(2)**:241-8, 2004
34. Nsouli TM, Nsouli SM, Linde RE, O'Mara F, Scanlon RT, Bellanti JA: Role of food allergy in serous otitis media. *Ann Allergy*, **73(3)**:215-9, 1994
35. Okamoto Y, Kudo K, Shirotori K, Nakazawa M, Ito E, Togawa K et al.: Detection of genomic sequences of respiratory syncytial virus in otitis media with effusion in children. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl*, **157**:7-10, 1992
36. Ondrey FG, Juhn SK, Adams GL.: Early response cytokine expression in adult middle ear effusion. *Otolaryngol Head Neck Surg*, **119**:342-5, 1998
37. Palva T, Lehtinen T, Halmepuro L: Immunoglobulin E in mucoid secretory otitis media. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, **47(4)**:220-3, 1985

38. Paradise JL, Bluestone CD, Felder H: The universality of otitis media in 50 infants with cleft palate. *Pediatrics*, **44**:35-42, 1969
39. Pitkäranta A, Jero J, Arruda E, Virolainen A, Hayden FG: Polymerase chain reaction-based detection of rhinovirus, respiratory syncytial virus, and coronavirus in otitis media with effusion. *J Pediatr*, **133**:390-4, 1998
40. Politzer A: A textbook of diseases of the ear. Philadelphia, 1883, Henry C Lea's Son.
41. Pukander J, Karma P, Sipil M: Occurrence and recurrence of acute otitis media among children. *Acta Otolaryngol*, **94**:479-86, 1982
42. Rayner MG et al.: Evidence of bacterial metabolic activity in culture-negative otitis media with effusion. *JAMA*, **279**:296-9, 1998
43. Sade J: Pathology and pathogenesis of serous otitis media. *Arch Otolaryngol*, **84**:297-305, 1966
44. Skotnicka B, Hassmann E: Cytokines in children with otitis media with effusion. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, **257**:323-6, 2000
45. Smirnova MG, Birchall JP, Pearson JP: In vivo study of IL-8 and goblet cells: possible role of IL-8 in the etiology of otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol*, **257**:323-6, 2002
46. Sobol SE, Taha R, Schloss MD, et al.: Th2 cytokines expression in atopic children with otitis media with effusion. *J Allergy Clin Immunol*, **100**:125-30, 2002
47. Suvilehto J, Roivainen M, Seppänen M, Meri S, Hovi T, Carpen O et al.: Rhinovirus/enterovirus RNA in tonsillar tissue of children with tonsillar disease. *Clin Virol*, **35**:292-7, 2006
48. Stool SE, Field MJ: The impact of otitis media. *Pediatr Infect Dis J*, **8**:S11-14, 1989

49. Szabó Zs, Szakács L, Turi B, Szakács G: Gyermek komplex audiológiai szűrésének eredményei Borsod-Abaúj-Zemplén megyében. Gyermekgyógyászat, 59:62-6, 2008
50. Teele DW, Klein JO, Rosner B: The Greater Boston Otitis Media Study Group: Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in Greater Boston: a prospective cohort study. J Infect Dis **160**:83-94, 1989
51. Tewfik TL, Mazer B: The links between allergy and otitis media with effusion. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg, **14**:187-90, 2006
52. Tos M, Plausen G: Tympanometry in 2-year-old children. Seasonal influence of frequency of secretory otitis and tubal function. ORL J Oto, **41**:1-10, 1979
53. Yellon RF, Leonard G, Marucha P: Characterization of cytokines present in middle ear effusions. Laryngoscope, **101**:165-9, 1991
54. Yeo SG, Park DC, Eun YG, Cha CI: The role of allergic rhinitis in the development of otitis media with effusion: effect on Eustachian tube function. Am J Otolaryngol, **28(3)**:48-52, 2007

9.2. Saját közlemények jegyzéke

Az értekezést megalapozó in extenso nemzetközi közlemények

Rezes S, Késmárki K, Sipka S, Sziklai I: Characterization of otitis media with effusion based on the ratio of albumin and immunoglobulin G concentrations in the effusion. Otol Neurotol 2007, **28(5)**: 663-7. IF: 1.410

Rezes S, Söderlund-Venermo M, Roivainen M, Kemppainen K, Szabó Z, Sziklai I, Pitkäranta A: Human bocavirus and rhino-enteroviruses in childhood otitis media with effusion. J Clin Virol. 2009, **46(3)**:234-7. IF: 3.320

Rezes S, Tóth L, Sipka S, Sziklai I: Evaluation of the relationship between allergy and otitis media with effusion in children. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2010 (közlésre beküldve)

Más témában megjelent nemzetközi közlemények

Papp Z, **Rezes S**, Jókay I, Sziklai I: Sensorineural hearing loss in chronic otitis media. Otol Neurotol 2003, **24(2)**: 141-4. IF: 1.073

Hajas A, Szodoray P, Barath S, Sipka S, **Rezes S**, Zeher M, Sziklai I, Szegedi G, Bodolay E: Sensorineural hearing loss in patients with mixed connective tissue disease: immunological markers and cytokine levels. J Rheumatol. 2009, **36(9)**:1930-6. IF: 3.282

Az értekezést megalapozó magyar nyelvű közlemények

Késmárki K, Sipka S, Alexa M, Lakatos G, **Rezes Sz**, Szegedi Gy, Sziklai I: Dobüregi váladék immunológiai vizsgálata gyermekkori otitis media catarrhalis chronica serosa esetén. Fül-orr-gégegyógyászat 2001, **47(1)**: 28-32.

Rezes Sz, Tóth L, Sipka S, Sziklai I: A gyermekkori otitis media catarrhalis chronica serosa (OMCCS) és az allergia összefüggésének vizsgálata. Fül-orr-gégegyógyászat 2009, **55(4)**: 165-69.

Más témában megjelent magyar nyelvű közlemények

Papp Z, **Rezes Sz**, Jókay I, Sziklai I: Percepció nagyothallás kialakulása idült gennyes középfülgyulladásban. Fül-orr-gégegyógyászat 2000, **46(2)**: 99-106.

Rezes Sz, Sziklai I: Van-e klinikai értéke a tonsilla szövettani vizsgálatának tonsillectomia után? Fül-orr-gégegyógyászat 2002, **48(1)**: 30-3.

Rezes Sz, O'Donoghue G, Sziklai I: Az életkor szerepe a praelingualis süket gyermekek cochleáris implantáció utáni halláshabilitációjában: meta-analízis. Fül-orr-gégegyógyászat 2003, **49(4)**: 207-15.

10. Tárgyszavak

Magyar nyelven: albumin, allergia, bocavírus, citokin, ELISA, enterovírus, immunglobulin, krónikus szerózus középfülgyulladás, PCR, Prick teszt, rhinovírus

Angol nyelven: albumin, allergy, bocavirus, cytokine, ELISA, enterovirus, immunoglobulin, otitis media with effusion, PCR, Prick test, rhinovirus

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom

- témavezetőmnek, Prof Dr. Sziklai Istvánnak a szakmai irányításért és a türelmes támogatásért,
- Prof. Dr. Sipka Sándornak a jótékony útmutatásért,
- Anne Pitkäranta professzornőnek a helsinki kutatómunkám során tanúsított sokirányú önzetlen segítségért,
- A Fül-orr-gégészeti Klinika orvosainak, kollégáimnak, műtősnőinek és minden dolgozójának a mindennapi közös sikerekért,
- Dr. Késmárki Katalinnak és volt kollégáimnak a kezdeti közös lépésekért,
- Dr. Szabó Zsoltnak, Dr. Makó Lőrincnek és a Miskolci Megyei Kórház Fül-orr-gégészeti osztály többi dolgozójának a mintagyűjtésben nyújtott segítségért,
- Kulcsár Andreának és a Regionális Immunlabor többi dolgozójának szakmai segítségükért és a minták feldolgozásában nyújtott technikai közreműködésükért,
- Maria Söderlund-Venermo, Merja Roivainen professzoroknak és nagyszerű asszisztenseiknek a finnországi kutatómunka sikeréért,
- Lak Juditnak az Erasmus Irodából és Nagy Gabriellának a PhD Irodából végtelen türelmükért,
- és mindazoknak, akik támogatással, tanácsukkal, türelmükkel hozzájárultak munkám sikeréhez.

12. Függelék

1. Első, az értekezést megalapozó megjelent publikáció:

Rezes S, Késmárki K, Sipka S, Sziklai I: Characterization of otitis media with effusion based on the ratio of albumin and immunoglobulin G concentrations in the effusion. Otol Neurotol 2007, **28(5)**: 663-7. IF: 1.410

2. Második, az értekezést megalapozó megjelent publikáció:

Rezes S, Söderlund-Venermo M, Roivainen M, Kemppainen K, Szabó Z, Sziklai I, Pitkäranta A: Human bocavirus and rhino-enteroviruses in childhood otitis media with effusion. J Clin Virol. 2009, **46(3)**:234-7. IF(2008): IF: 3.320

3. Az értekezést megalapozó benyújtott kézirat

Rezes S, Tóth L, Sipka S, Sziklai I: Evaluation of the relationship between allergy and otitis media with effusion in children. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2010