

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**KÓRLEFOLYÁS, PROGNÓZIS ÉS
FENOTÍPUSOK KEVERT KÖTŐSZÖVETI
BETEGSÉGBEN**

Dr. Hajas Ágota

Témavezető: Prof. Dr. Bodolay Edit



DEBRECENI EGYETEM
Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai
Doktori Iskola
Debrecen, 2013.

KÓRLEFOLYÁS, PROGNOZIS ÉS FENOTÍPUSOK KEVERT KÖTŐSZÖVETI BETEGSÉGBEN

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Hajas Ágota

Készült a Debreceni Egyetem Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai
és Allergológiai doktori iskolája
(Autoimmun betegségek programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Bodolay Edit, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof.Dr. Maródi László, az MTA doktora
tagok: Dr. Kovács László, PhD
Dr. Antal-Szalmás Péter, PhD

A doktori szigorlat időpontja:
Debreceni Egyetem, ÁOK, Klinikai Immunológiai Tanszék
2014. február 19. 11 óra

Az értekezés bírálói:

Prof.Dr. Bata Zsuzsanna, az MTA doktora
Dr. Szűcs Gabriella, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof.Dr. Maródi László, az MTA doktora
tagok: Prof.Dr. Bata Zsuzsanna, az MTA doktora
Dr. Szűcs Gabriella, PhD
Dr. Kovács László, PhD
Dr. Antal-Szalmás Péter, PhD

Az értekezés védésének időpontja:
Debreceni Egyetem ÁOK, Bőrgyógyászati Klinika tanterme
2014. február 19. 14 óra

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AECA	anti-endothelsejt antitest
ANA	anti-nukleáris antitest
ApoA1	apolipoprotein A1
ApoB	apolipoprotein B
APS	antifoszfolipid szindróma
CRP	C-reaktív protein
CCP	ciklikus citrullinált peptid
CL	cardiolipin
DLCO	szénmonoxid diffúziós kapacitás
DNS	dezoxiribonukleinsav
EMG	electromyographia
ENA	extrahálható nukleáris antigén
ENG	electroneurographia
ET-1	endothelin-1
GN	glomerulonephritis
HDL	high density lipoprotein
IFN- γ	interferon-gamma
Ig	immunglobulin
ILB	interstitialis légzőszervi betegség
KS	kortikoszteroid
LDL	low-density lipoprotein
MCTD	mixed connective tissue disease – kevert kötőszöveti betegség
PAH	pulmonalis artériás hipertenzió
RNP	ribonukleoprotein
SLAM	szisztémás lupus erythematosus activity measure
SLE	szisztémás lupus erythematosus
Sm	Smith antigén
SNHCS	sensorineuralis halláscsökkenés
Th	helper T-sejt
TM	thrombomodulin
TNF- α	tumor nekrosis faktor-alfa
Treg	regulatórikus T-sejt
TTP	thrombotikus thrombocytopeniás purpura
vWFAg	von Willebrand faktor antigén

BEVEZETÉS

A kevert kötőszöveti betegség (mixed connective tissue disease; MCTD) több szervet egyidejűleg károsító, krónikus gyulladással járó autoimmun kórkép.

Az MCTD-t 1972-ben a Stanford Egyetem munkacsoportja Gordon Sharp irányításával írta le először. A betegeket klinikailag Raynaud jelenség, polyarthrititis, myositis, trigeminus neuralgia, változatos megjelenésű bőrtünetek (fotoszenzitivitás, erythema, sclerodactylia, teleangiectasia), nyelőcső motilitászavar, nyirokcsomó-, máj- és lépnyagyobbodás, láz, anaemia jellemezte. A tünetek rendkívül jól és gyorsan reagáltak kortikoszteroid kezelésre. A betegek szérumában a nukleáris antigén elleni antitest volt kimutatható. Az antigén további analízise során kiderült, hogy az autoantitest specifikus a nukleáris ribonukleoproteinre (RNP). Sharp és munkatársai úgy vélték, hogy a fenti tünettársulást hordozó betegcsoport az anti-RNP autoantitest pozitivitás mellett önálló kórképet képvisel.

Az 1980-as évek közepéig az MCTD önállóságát sokan megkérdőjelezték, aminek több oka is volt. 1987-ig nem voltak meg az MCTD diagnosztikus kritériumai. A névválasztás, különösen a kevert szó használata nem volt szerencsés. A kevert elnevezés miatt sokan az MCTD-t az overlap szindrómák közé sorolták. Az MCTD-s betegek követése során kiderült, hogy a kórkép nemcsak a kötőszövet megbetegedését okozza, hanem döntően parenchyma károsodással jár, melynek prognózisa közel sem annyira jóindulatú, mint azt korábban gondolták. Az MCTD önálló voltának elismerését nehezítette, hogy a kezdeti, rövid távú megfigyelések nem voltak alkalmasak annak eldöntésére, hogy az MCTD megmarad-e a saját keretei között, vagy egy nem differenciált állapot, ami idővel szisztémás lupus erythematosusba, szisztémás sclerosisba, vagy más szisztémás autoimmun kórképbe progreddialhat.

A hosszabb távú és multicentrikus vizsgálatok eredményei, az uridinben gazdag ribonukleoprotein ellen termelődött autoantitest pontosabb megismerése, az 1987-ben leírt diagnosztikus kritériumok, valamint az MCTD-ben meghalt betegek kórszövettani feldolgozásakor észlelt, a kórképre jellemző obliteratív vasculopathia, endothel proliferáció alapján ma már az MCTD-t önálló szisztémás autoimmun kórképként tartják számon.

CÉLKITÚZÉSEK

1. Munkánk során célunk volt az MCTD hosszú távú kórlefolrásának vizsgálata. Felmértük, milyen az MCTD-s betegek túlélése, milyen szervi érintettség mellett lehet kedvezőtlen prognózzsal számolni, és milyen patomorfológiai eltérések jellemzik az MCTD-ben meghalt betegeket.
2. Célunk volt annak elemzése, hogy az MCTD egységes fenotípussal jellemzett betegség-e. Arra kerestünk választ, hogy az anti-U1-RNP mellett előforduló egyéb autoantitestek, mint az anti-CCP, anti-cardiolipin antitestek befolyásolják-e a betegség klinikai megjelenését, illetve az MCTD-n belül elkülöníthetők-e különböző fenotípussal rendelkező alcsoportok.
3. MCTD-s betegekben vizsgáltuk a D-vitamin szint alakulását, valamint a D-vitamin hiány és az egyes szervi eltérések közötti összefüggést. Arra kerestünk választ, hogy van-e összefüggés az MCTD-s betegek cardiovascularis érintettsége és a D-vitamin szint között.
4. Vizsgáltuk az MCTD-s betegekben észlelt immunmediálta halláscsökkenést, és megnéztük, hogy milyen klinikai jellemzők, autoantitestek és immunszerológiai sajátosságok befolyásolják annak kialakulását.
5. Meghatároztuk az MCTD-s betegek perifériás vérében keringő B-sejt alcsoportokat. Vizsgáltuk, hogy a betegség aktivitása hogyan befolyásolhatja a B-sejt alcsoportok arányát. Vizsgáltuk az anti-U1-RNP autoantitestek tartósan magas szintje és a B-sejt alcsoportok közötti összefüggést.

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

Betegek

Munkánk során a DEOEC Belgyógyászati Intézet Klinikai Immunológiai Tanszékén 1979 óta gondozott 280 magyar MCTD-s beteg adatait dolgoztuk fel. Az MCTD-t az Alarcon-Segovia és Villarreal által leírt klasszifikációs kritériumok alapján diagnosztizáltuk. A betegek szérumban az U1-RNP ellen termelődött autoantitestek kimutatása az MCTD klasszifikálásának alapfeltétele. A klinikai kritériumtünetek a következők: kézhát- és ujjduzzanat, synovitis, myositis, Raynaud jelenség és sclerodactylia. MCTD véleményezhető, ha az anti-RNP autoantitest pozitivitás mellett a klinikai kritériumtünetek közül legalább 3 teljesül, beleértve a myositist vagy synovitist.

A szövettani mintavételeket a DEOEC Sebészeti Intézetben, a szövettani minták értékelését a DEOEC Patológiai Intézetben végezték. 1979 és 2012 között diagnosztikus és terápiás cézzattal 105 izombiopszia, 47 bőrbopszia, 6 nyitott tüdőbopszia, 14 transbronchialis biopszia, 8 vese-, 3 máj-, 52 pajzsmirigy- és 44 ajakbiopszia történt.

A képalkotó vizsgálatok, mellkas- és csontfelvételek, CT, MR, angiográfia a DEOEC Radiológiai Klinikán, az izotóp vizsgálatok (kéz perfúzió, nyelőcső, tüdő scintigráfia) a DEOEC Nukleáris Medicina Intézetben készültek. Az értekezésben felhasznált laboratóriumi, immunszerológiai vizsgálatok a DEOEC Laboratóriumi Medicina Intézetben, a Montreali Egyetem Kutatólaboratóriumában és a DEOEC Belgyógyászati Intézet Regionális Immunológiai Laboratóriumában készültek.

A betegeket általában három-négyhavonta, illetve a szükségletnek megfelelően ellenőriztük. A részletes anamnézis és fizikális vizsgálat mellett minden vizit alkalmával történt vörösvértest süllyedés, nagy érzékenyséű (high sensitive – hs) C-reaktív protein, kreatin-kináz meghatározás, teljes vérkép, máj- és vesefunkció vizsgálat, vizeletvizsgálat, autoantitest panel. A betegekben évente, állapotuktól függően a következő vizsgálatok történtek: légzésfunkciós tesztek (teljes test plethysmográfia, DLCO), nyelőcső-, gyomor-bélpaszázis vizsgálat, echokardiográfia, hasi ultrahang, carotis duplex ultrahang, EMG, ENG vizsgálat,

Schirmer teszt, könnyfilm felszakadási idő vizsgálata, melyek a társklinikákon történtek.

Az MCTD klinikai aktivitását az SLE activity measure (SLAM) score segítségével ítéltük meg. Magas aktivitású betegségnek a 6 vagy e feletti SLAM értéket tekintettük.

Laboratóriumi mérések

Az **antinukleáris antitestek** (ANA) azonosítása indirekt immunfluoreszcenciával történt (ImmuGloTM, IMMCO Diagnostics, Inc., Buffalo, NY), szubsztrátként HEp-2 sejteket alkalmazva.

Az **autoantitestek** szérumkoncentrációját ELISA módszerrel vizsgáltuk: anti-U1-RNP (Pharmacia and Upjohn, Freiburg, Németország), anti-SSA, anti-SSB, anti-Jo1, anti-Scl-70 (Hycor Biomedical), anti-DNS, anti-cardiolipin (IgG, IgA, IgM), anti- β 2-GPI (IgG, IgA, IgM) (Orgentec Németország), anti-CCP (Immunoscan CCPlus, Euro-Diagnostica, AB, Malmö, Svédország). IgM RF meghatározása nephelometriával történt. Az endothelsejt elleni antitestek meghatározásához az endothelsejteket humán köldökzsinór vénából nyertük, az endothelsejt elleni antitestek mérésére ELISA technikát alkalmaztunk.

A plazma **citokín** szinteket ELISA módszerrel határoztuk meg, a gyártó utasítása szerint (IL-23: Bender MedSystems, Burlingame, CA, USA; IL-6, IL-10, IL-12, IL-17 és IFN- γ : R&D System, Minneapolis, MN, USA).

A **thrombomodulin** (TM) (Diagnostica Stago, Asnieres, Franciaország) és **endothelin-1** (ET-1) (Biomedica, Bécs, Ausztria) szintek meghatározásához ELISA technikát alkalmaztunk a gyártók utasítása szerint.

A **von Willebrand faktor antigén** (vWFAg) meghatározása immunturbidimetriás módszerrel történt (Diagnostica Stago, Asnieres, Franciaország).

A **B-sejt alcsoportok** vizsgálatához frissen vett perifériás vérből mononukleáris sejteket (PBMC) izoláltunk Ficoll gradiens módszerrel. Immunfluoreszcens jelöléshez a következő monoklonális antitesteket használtuk: PerCP-Cy5.5-jelölt anti-CD19 (BioLegend, San Diego, CA, USA); APC-jelölt anti-CD27; PE-jelölt anti-IgD; FITC-jelölt anti-CD38; FITC-jelölt anti-CD95 (BD Biosciences, Heidelberg, Németország). A mérést FACSCalibur

áramlási citométeren végeztük, a kiértékelés CellQuest szoftver segítségével történt.

A CD4+ T-sejtek intracitoplazmatikus IL-10 és IFN- γ citokin tartalmának meghatározásához a limfocitákat phorbol-miristate-acetate-tal (PMA, 25 ng/ml) és Ionomycinnel (1 μ g/ml) stimuláltuk, a sejtfelszíni CD4 molekulák festése 15 μ l anti-humán CD4-PC5 monoklonális antitesttel történt. FACS Permeabilizing Solutionnal permeabilizáltuk a sejtmembránokat, majd monoklonális ellenanyagokkal jelöltük a Golgi készülékben lévő citokineket (anti-humán IL-10-PE, Caltag, 20 μ l; FITC-jelölt anti-humán IFN- γ , Becton Dickinson, 20 μ l). A minták értékelése Beckman Coulter FC500 típusú áramlási citométeren (Beckman Coulter Inc., Miami, FL) történt.

CD4+CD25^{high}FoxP3+ limfociták vizsgálatához PBMC-t izoláltunk, a jelöléshez anti-CD4-FITC, anti-CD25-PC5 monoklonális antitesteket használtunk. Az intracelluláris FoxP3 jelölést a gyártó utasításainak megfelelően végeztük el. A mérést FACSCalibur áramlási citométeren végeztük, a kiértékelés CellQuest szoftver segítségével történt.

A különböző **B-sejt és T-sejt alcsoportok abszolút számának** meghatározása az áramlási citometriás adatok és a hematológiai automatán (Advia 120, Bayer Diagnostics) mért abszolút limfocita szám alapján történt, az áramlási citometriás mérések alapján kapott %-os értékeket felhasználva állapítottuk meg az abszolút sejtszámokat.

A **25(OH)D vitamin szint meghatározása** a DEOEC Laboratóriumi Medicina Intézetben történt nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával, Bio-Rad reagens kité használva (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). A D-vitamin szinteket nyári periódusban (június-október) határoztuk meg. Élettani D-vitamin szintnek a 30 ng/ml feletti 25(OH)D értéket tekintettük. 21-29 ng/ml közötti 25(OH)D érték esetén D-vitamin elégtelenséget, míg 25(OH)D <20 ng/ml esetén D-vitamin hiányt vélelmeztünk.

Az otolaryngológiai vizsgálatok a DEOEC Fül-Orr-Gégészeti Klinikán történtek. Tisztahang-küszöb audiometriával megállapításra került a lég- és csontvezetéses halláscsökkenés mértéke (GSI61 Clinical audiometer, Nicolet Biomedical). A csontvezetéses hallásküszöböt 250, 500, 1000, 2000 és 4000 Hz

frekvencián vizsgáltuk, a mért csontvezetési küszöbértékeket átlagoltuk.

Statisztika

Az MCTD-n belül a hasonló klinikai tünetekkel és autoantitestekkel rendelkező betegcsoportok elkülönítésére nem hierarchikus K-közép klaszterelemzést (Stata Package, StataCorp, 2007, Stata Statistical software: Release 10. College Station TX: Stata Corp LP) végeztünk. A klaszterelemzéshez az MCTD-re karakterisztikus tüneteket és antitesteket használtuk: Raynaud jelenség, pulmonalis artériás hipertenzió, myositis, interstitialis légzőszervi betegség (ILB), erozív arthritis, anti-CL, AECA és anti-CCP antitestek. A betegek 3 klaszterbe sorolása különböző tünetekkel és antitestekkel rendelkező alcsoportokat eredményezett. A 3 alcsoport összehasonlítására folytonos változók esetén egyszempontos varianciaanalízist (ANOVA), míg diszkrét változók esetén konvencionális khi-négyzet próbát alkalmaztuk.

A 280 MCTD-s beteg mortalitásának vizsgálata során az élő és meghalt betegek klinikai tüneteit és az egyes tünetek prognosztikai szerepét khi-négyzet teszttel vizsgáltuk. Túlélés vizsgálatához Kaplan-Meier módszert alkalmaztunk. Log rank tesztet használtunk a különböző szervi érintettség esetén a túlélés összehasonlításához.

A D-vitamin szintek és az MCTD aktivitása, autoantitestek, biológiai markerek és cardiovascularis rizikófaktorok közötti kapcsolatot Pearson-féle korrelációval vizsgáltuk. A D-vitamin koncentráció és a klinikai tünetek közötti összefüggést univariáns és multivariáns logisztikus regresszióval vizsgáltuk, a zavaró tényezőkre korrigálással (életkor, testtömeg-index, pozitív cardiovascularis családi anamnézis, dohányzás, diabetes mellitus, menopausa). A nem standardizált és standardizált koefficiens is számoltuk. A betegek és kontrollok klinikai és laboratóriumi paramétereit t-próbával hasonlítottuk össze, a szórásgegyezést Levene próbával ellenőriztük.

Az eredményeket $p < 0,05$ érték esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

1. A 280 MCTD-s beteg hosszú távú követése

Klinikai tünetek

1979. januártól 2011. decemberig kezelt és követett 280 MCTD-s beteg klinikai és immunszerológiai eltéréseit dolgoztuk fel. A 280 MCTD-s beteg életkora a vizsgálatkor $53,1 \pm 12,6$ év (19-78 év), az átlagos követési idő $13,1 \pm 7,5$ év (1-33 év) volt. A vizsgált betegpopulációra a női nem dominanciája volt jellemző, nő:férfi arány = 12,3:1. (259 nő és 21 férfi).

A Raynaud jelenség, kézhatóduzzanat, sclerodactylia előfordulása nem változott lényegesen a kórlefolyás során (MCTD kezdetekor és a követés során: Raynaud jelenség: 50,3 % szemben 57,5 %, kézhatóduzzanat: 53,6 % szemben 55,7 %, sclerodactylia: 35,3 % szemben 41,8 %). Nem emelkedett jelentősen a bőrtünetek száma: 32,9 % szemben 36,4 %. Ugyanakkor nőtt a polyarthritisz, a serositisek, a nyelőcső motilitászavar, a myositis, az interstitialis légzőszervi eltérések előfordulása (MCTD kezdetekor és a követés során: polyarthritisz: 65,3 % szemben 89,6 %, $p < 0,001$, pleuritis/pericarditis: 13,9 % szemben 29,6 %, $p < 0,001$, nyelőcső motilitászavar: 38,9 % szemben 49,6 %: $p < 0,01$, myositis: 13,5 % szemben 32,5 %, $p < 0,001$, ILB: 0,7 % szemben 47,1 %, $p < 0,001$). A 280 betegből 132 esetben észleltünk a kórlefolyás során ILB-t. Az ILB-ben szenvedő betegek szérumában az antiszintetáz szindrómára jellemző anti-Jo1 antitesteket nem tudtuk kimutatni. A követés során végzett 16 tüdőbiopsziás minta szövettani feldolgozása minden esetben nem-specifikus interstitialis pneumonitist igazolt a mononukleáris sejtek infiltrációjával a tüdőparenchymában.

Voltak szervi eltérések, amelyeket a betegség kezdetekor nem észleltünk, vagy nagyon kis százalékban jelentkeztek: a 280 betegből 11 MCTD-s betegben alakult ki veselaesio, 3 betegben TTP/HUS okozta microangiopathiás eltérések, 8 betegben glomerulonephritis volt igazolható (5 betegben mesangialis GN, 3 betegben focalis GN).

A követés 4. évében észleltük az első pulmonalis artériás hipertenzió (PAH) jelentkezését, ami 50 betegben alakult ki a kórlefolyás során, és 9 betegben halállal végződött (PAH: 0% szemben 17,8%). Az 50 PAH-hal szövődött MCTD-s betegben a pulmonalis szisztolés

artériás nyomás (PSAP) átlagosan $61,9 \pm 18,1$ Hgmm volt (40-105 Hgmm). A PAH-hal társult MCTD-s betegek szérumában tartósan magas volt az anti-U1-RNP szintje ($56,2 \pm 19,4$ U/ml, r: 22-87 U/ml), és az 50 betegből 42 beteg szérumában (84%) endothelsejt elleni antitesteket tudtunk magas koncentrációban kimutatni.

Új tünetként észleltük MCTD-ben az antifoszfolipid szindróma (APS) társulását, a cardiovascularis eltéréseket, és a követés során egyre gyakoribb malignus tumorokat.

72 betegnek volt thrombosisa a kórlefolyás során, anti-CL IgG antitest pozitivitással, ami kimerítette a secunder APS diagnosztikus kritériumát. Leggyakoribb a vénás thrombosisok előfordulása (81,9%) volt, 12,5 %-ban agyi ischaemiás történéis, 5,5 %-ban alsó végtagi artériás elzáródás alakult ki.

Cardialis érintettség az MCTD diagnosztizálásakor csak 7 %-ban volt észlelhető. A kórlefolyás során a betegek 35 %-ában alakult ki cardialis manifesztáció.

Rosszindulatú daganatos betegséget 16 betegben találtunk a kórlefolyás során. A követés során meghalt betegekben gyakoribb volt a rosszindulatú tumorok előfordulása (27,2 %), mint az élő betegek körében (3,8 %), a tumoros folyamat azonban egy esetben sem volt a primer halálok.

Autoantitestek MCTD-s betegek szérumában

Az MCTD-s betegek szérumában magas szérumkoncentrációban tudtunk kimutatni anti-U1-RNP antitestet. A betegek szérumában az anti-U1-RNP mellett más típusú antitestek jelenlétével is lehetett számolni. Endothelsejt elleni antitest 94 beteg (33,5%) szérumában volt jelen, anti-CL antitestet 98 beteg (35,0 %) széruma tartalmazott (IgG n=58, IgA n=21, IgM n=19 beteg). Anti- β 2-GPI autoantitestet 79 esetben (28,2%) (IgG n=40, IgA n=22, IgM n=17 beteg), és anti-CCP autoantitestet 53 beteg szérumában (18,9 %) találtunk, míg anti-SSA antitestet 94 beteg (32,8 %) széruma tartalmazott. Anti-DNS (3,2 %) és anti-Sm (6,7 %) antitestek előfordulása lényegesen kisebb gyakoriságban volt jelen MCTD-ben.

Szoros összefüggést találtunk a cardiovascularis betegségek előfordulása és az anti-CL autoantitest jelenléte között [IgG/IgM: RR: 2,925 (95% CI: 1,50-5,7); IgA: RR: 3,059, (95% CI: 1,15-8,1)]. Az anti- β 2-GPI antitestek jelenléte szintén gyakoribb volt a cardiovascularis érintettséggel rendelkező betegekben [anti- β 2-GPI

IgG/ IgM (RR: 2,79, 95% CI: 1,41-5,5), anti- β 2-GPI IgA: RR: 6,2 (95 % CI: 2,2-17,7)].

Szoros pozitív korrelációt észleltünk a thrombotikus történések és az endothelsejt elleni antitestek jelenléte (RR: 2,917, 95% CI: 1,58-5,36), valamint az anti-CL IgG között (RR: 31,39, 95% CI: 1,76-54,26).

Az endothelsejt elleni antitestek és az anti-CL IgG jelenlétében nagyobb valószínűsége volt a PAH kialakulásának, mint az antitestek jelenléte nélkül.

Halálokok MCTD-ben

A 280 MCTD-s betegből 22 beteg (7,8 %) halt meg (9 nő, 3 férfi) az átlagosan 12,3 éves követési időszakban.

MCTD-s betegekben a legfőbb komplikációt a pulmonalis artériás hipertenzió jelentette. Az időben elkezdett terápia ellenére 9 beteg halálát PAH okozta. Három beteg TTP/HUS következtében exitált. MCTD-ben a TTP ritka manifesztáció. Egy betegben friss cytomegalovírus infekció provokálta a TTP-t. A betegek állapota KS lökésterápia, plazmacsere, illetve friss fagyasztott plazma adására nem mutatott javulást, 4-8 nap alatt neuropszichiátriai tünetek jelentek meg, és csaknem valamennyi szervet érintő microvascularis thrombotikus elváltozások okozták a halált.

Három beteg infekcióban halt meg. Két betegben hepatitis C vírus infekció diagnosztizálását követően 12 és 15 évvel alakult ki májelégtelenség, mely halálhoz vezetett. Egy beteg Staphylococcus sepsisben exitált.

Cardiovascularis esemény miatt 7 beteget vesztettünk el. Két beteg dilatatív cardiomyopathia (DCM) következtében halt meg. Kórboncolás egy esetben súlyos myocarditist igazolt. Négy beteg acut coronaria szindróma következtében exitált.

A 280 MCTD-s beteg 5 éves túlélése 98%, 10 éves túlélése 96%, 15 éves túlélése 88%.

A követési idő alatt meghalt betegek valamint az élő MCTD-s betegek klinikai tüneteit és autoantitestjeit univariáns analízis segítségével hasonlítottuk össze. Az MCTD-ben meghalt betegekben fiatalabb életkorban diagnosztizáltuk a betegséget, mint a jelenleg is élő betegekben (meghalt vs. élő betegek: $35,5 \pm 10,4$ vs. $41,8 \pm 10$ év, $p=0,03$). A követési időben nem volt szignifikáns különbség a

meghalt és az élő betegek között (meghalt vs. élő betegek: $13,2 \pm 7,6$ vs. $12,3 \pm 7,5$; $p=0,835$).

A PAH jelenléte ($p=0,0071$, RR: 3,664, 95% CI: 1,47-9,133), a serositis ($p<0,001$, RR:4,79, 95% CI: 1,926-11,927), a secunder APS ($p=0,039$, RR:2,63, 95% CI: 1,085-6,394), a cardiovascularis érintettség ($p<0,001$, RR: 3,625, 95% CI: 1,463-8,979) szignifikánsan gyakoribb volt a meghalt betegekben, és jelenlétük nagyobb rizikót jelentett a halálózásra. Nyelőcső motilitászavar ($p=0,04$, RR: 2,837, 95% CI: 1,076-7,483), veseérintettség ($p=0,04$, RR:4,93, 95% CI: 1,208-20,147) és malignus tumorok ($p<0,001$, RR: 9,3, 95% CI: 2,99-28,837) előfordulása is negatívan befolyásolta az MCTD-s betegek túlélését.

Anti-CL antitest ($p=0,019$, RR: 2,94, 95% CI: 1,209-7,151), anti- β -2-GPI ($p=0,002$, RR: 4,202, 95% CI: 1,717-10,283) és az endothelsejt elleni antitestek jelenléte ($p=0,002$, RR: 6,154, 95% CI: 2,30-16,321) növelte a mortalitást.

2. Fenotípusok vizsgálata MCTD-ben

Az elmúlt évek vizsgálatai egyértelműen igazolták Sharp és munkatársai 1972-ben végzett megállapítását az MCTD önállóságáról. Az első leírása óta eltelt 40 évben azonban az is bebizonyosodott, hogy az MCTD-n belül az egyes tünetek jobban előtérbe kerülnek, és a szervi eltérések gyakorisága eltérő az egyes csoportokban. Vannak olyan betegek, akikben a vascularis eltérések állnak előtérben, míg más MCTD-s betegekben a nyelőcsőeltérések és a myositis a fő tünet, és vannak olyan betegek, akiknek igen súlyos ízületi eltérései vannak. A klinikai tünetek változatosságát magyarázhatja az, hogy eltérő a patomechanizmus, vagy az anti-U1-RNP antitest mellett olyan antitestek vannak a betegek szérumában, amelyek módosítják és megváltoztatják a fenotípust.

MCTD-ben a fenotípus vizsgálathoz 201 (190 nő és 11 férfi) MCTD-s beteg adatait dolgoztuk fel. A klaszter analízissel a vizsgált 201 MCTD-s beteg 3 alcsoportra volt osztható a megadott paraméterek alapján.

Az 1-es csoportba 77 beteg, a 2-es csoportba 79 beteg, míg a 3-as csoportba 45 beteg került.

Az MCTD-s betegek életkora átlagosan a vizsgálatkor $52,9 \pm 12,4$ év volt (31-88 év között). Az 1-es csoportba tartozó betegek életkora a felméréskor szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a 2-es és a 3-as csoportba sorolható betegeké (1-es csoport: $50,8 \pm 12,7$; 2-es csoport: $55,1 \pm 9,7$; 3-as csoport: $56,1 \pm 14,7$ év; $p < 0,001$). Az MCTD fennállásának ideje átlagosan $12,5 \pm 7,2$ év volt (1-30 év között), és a 3 csoportban a betegség fennállása között nem találtunk szignifikáns különbséget.

Az 1-es csoportban a tünetek közül a vascularis eltérések domináltak. A pulmonalis artériás hipertenzió (55,8 %; $p < 0,001$), Raynaud jelenség (92,2 %; $p < 0,001$), a bőrtünetek közül a livedo reticularis (24,6 %, $p < 0,001$) előfordulása szignifikánsan magasabb volt az 1-es csoportban, mint a 2-es vagy a 3-as csoportban. Az 1-es csoportba tartozó betegekben szoros összefüggést találtunk a PAH és az endothelsejt elleni antitest ($p < 0,001$, OD: 24,618; 5,206-116,42), valamint a PAH és az anti-CL antitestek jelenléte között ($p < 0,001$, OD: 12,0; 3,823-37,669). Az 1-es csoport betegeiben gyakoribb volt a sekunder antifoszfolipid szindróma, mint a 2-es és a 3-as csoportban (50,6 %, $p < 0,001$).

A 2-es csoportban az ILB (98,7 %; $p < 0,001$), myositis (77,2 %; $p < 0,001$), és nyelőcső motilitászavar (89,8 %; $p < 0,001$) szignifikánsan gyakrabban fordult elő a másik két csoporthoz képest.

A 3-as csoportban a 44 betegből 42 esetben (93,3 %) radiológiailag igazolt erozív arthritis alakult ki. A 44 betegből 37 esetben (84 %) a betegek szérumában az U1-RNP autoantitest mellett anti-CCP antitestet találtunk. A 3-as csoportba tartozó anti-CCP pozitív betegekben az arthritis mellett gyakoribb volt a serositis és a sclerodactylia, mint az 1-es és a 2-es csoportban.

A követési idő alatt megvizsgáltuk a 3 alcsoport kumulált túlélését. A dominálónan vascularis eltérésekkel rendelkező 1-es klaszter túlélése szignifikánsan rosszabb volt a másik két klaszterhez képest.

3. Immunmediálta halláscsökkenés MCTD-ben

A poliszisztémás autoimmun betegségek egyik szervi manifesztációja lehet a belső fül érintettsége, mely sensorineuralis

halláscsökkenésben (SNHCS) és egyensúlyzavarban nyilvánulhat meg. A primer immunmediálta SNHCS szerv-specifikus autoimmun betegség, ekkor a kórfolyamat csak a belső fület érinti, a halláscsökkenésen kívül nincs egyéb szervi tünet. A secunder forma többnyire szisztémás autoimmun kórképekhez társul.

Az immunmediálta SNHCS előfordulásáról kevert kötőszöveti betegségben nincsenek irodalmi adatok.

Az MCTD és az immunmediálta halláscsökkenés összefüggését a DEOEC Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék Autoimmun szakrendelésén 2006. január és 2006. július között megjelent 71 MCTD-s betegen vizsgáltuk.

Felmértük MCTD-ben a sensorineurális halláscsökkenés gyakoriságát, majd a sensorineurális halláscsökkenéssel járó MCTD-s betegek klinikai jellemzőit és immunszerológiai sajátosságait vizsgáltuk. A vizsgált 69 nő és 2 férfibeteg átlag életkora a felméréskor $57,8 \pm 8,2$ év volt, az MCTD átlagosan $14,5 \pm 8,0$ éve állt fenn. Kontrollként 51 korban azonos, poliszisztémás autoimmun betegségben nem szenvedő, egészséges nő adatai szerepeltek.

Sensorineurális halláscsökkenést a 71 MCTD-s betegből 33 esetben (46,5 %) igazoltunk audiogramon. Az MCTD-s betegekben a SNHCS előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt, mint a kontroll csoportban ($p < 0,007$). Nem találtunk szignifikáns eltérést a 33 halláscsökkenéssel járó és a 38 halláscsökkenés nélküli MCTD-s beteg életkora, és a betegségük tartama között (életkor: $58,7 \pm 8,9$ év vs. $57,1 \pm 7,6$ év, ns.; a betegség tartama: $15,4 \pm 8,3$ év vs. $13,8 \pm 7,8$ év, ns.).

Univariáns analízissel MCTD-ben sensorineurális halláscsökkenésre hajlamosító tünet volt a Raynaud jelenség ($p = 0,03$) és a secunder APS ($p = 0,05$).

A felméréskor az anti-U1-RNP autoantitestek szérumszintje magasabb volt a sensorineurális halláscsökkenéssel járó MCTD-s betegekben ($19,3 \pm 10,2$ U/ml vs. $13,8 \pm 11,3$ U/ml; $p < 0,05$). Ugyancsak jelentősen magasabb volt az endothelsejt elleni antitestek szérumkoncentrációja a sensorineurális halláscsökkenéssel járó betegekben ($41,2 \pm 31,8$ U/ml vs. $23,9 \pm 19,0$ U/ml; $p < 0,001$). A foszfolipid struktúrák ellen termelődő autoantitestek közül anti-CL IgG szérumszint emelkedését észleltük SNHCS-ben ($19,9 \pm 25,2$ U/ml vs. $9,4 \pm 12,9$ U/ml; $p < 0,03$).

A halláscsökkenéssel járó MCTD-s betegekben az IFN- γ és a TNF- α citokin szintek szignifikánsan magasabbak voltak, mint a halláscsökkenés nélküli MCTD-s betegekben (IFN- γ szint: $51,8 \pm 22,1$ pg/ml vs. $39,5 \pm 32,0$ pg/ml, $p < 0,05$; TNF- α : $34,7 \pm 23,2$ pg/ml vs. $22,1 \pm 14,7$ pg/ml, $p < 0,05$).

A sensorineurális halláscsökkenéssel járó MCTD-s betegek CD4+ Th1 sejtjei fokozottabb mértékben tartalmazták az IFN- γ -t, mint a sensorineurális halláscsökkenés nélküli MCTD-s betegek CD4+ T-sejtjei ($39,8 \pm 13,8$ vs. $24,8 \pm 9,7$ %, $p = 0,01$).

Az MCTD-s betegekben a CD4+CD25^{high}FoxP3+ regulatórikus T-sejtek százalékos megoszlása (a CD4+ T-sejtekhez viszonyítva) és abszolút száma alacsonyabb volt, mint a kontroll csoportban. A SNHCS-sel járó betegekben a CD4+CD25^{high}FoxP3+ Treg sejtek száma relatív és abszolút értékben is alacsonyabb volt, mint a halláscsökkenés nélküli MCTD-s betegekben (CD4+CD25^{high}FoxP3+ Treg sejtek %: Kontroll: $4,36 \pm 0,99$ %, MCTD-SNHCS-sel^a: $2,55 \pm 1,33$ %, MCTD-SNHCS nélkül^b: $3,14 \pm 1,74$ %, K-a: $p < 0,001$, K-b: $p < 0,05$, a-b: ns.; abszolút érték: Kontroll: $0,04 \pm 0,016$ G/l, MCTD-SNHCS-sel^a: $0,019 \pm 0,005$ G/l, MCTD-SNHCS nélkül^b: $0,028 \pm 0,012$ G/l, K-a: $p < 0,001$, K-b: $p < 0,001$, a-b: $p < 0,05$).

MCTD-s betegekben a CD4+IL-10+ indukálható regulatórikus T-sejtek százaléka és abszolút száma magasabb volt, mint a kontroll csoportban. A SNHCS-sel járó MCTD-s betegekben a CD4+IL-10+ Treg sejtek relatív és abszolút értéke magasabb volt, mint a SNHCS nélküli MCTD-s betegekben, de statisztikailag a különbség nem volt szignifikáns (CD4+IL-10+ Treg sejtek %: Kontroll: $2,9 \pm 0,8$ %, MCTD-SNHCS-sel^a: $11,5 \pm 2,1$ %, MCTD-SNHCS nélkül^b: $9,2 \pm 3,0$ %, K-a: $p < 0,001$, K-b: $p < 0,001$, a-b: ns.; Kontroll: $0,062 \pm 0,02$ G/l, MCTD-SNHCS-sel^a: $0,18 \pm 0,078$ G/l, MCTD-SNHCS nélkül^b: $0,16 \pm 0,09$ G/l, K-a: $p < 0,001$, K-b: $p < 0,001$, a-b: ns.).

4. D-vitamin hiány és cardiovascularis rizikófaktorkok

A D-vitamin klasszikus hatása az intestinális kalcium és foszfor felszívódás fokozása, azonban autokrin és parakrin módon számos egyéb hatást is kifejt. A D-vitamin hiányos állapotban egyértelműen nagyobb számos autoimmun kórkép prevalenciája és súlyossága. A D-vitamin hiány és a cardiovascularis morbiditás és mortalitás közötti összefüggés is ismert.

Felmértük az MCTD-s betegek D-vitamin státuszát, továbbá megvizsgáltuk MCTD-ben a D-vitamin szint összefüggését a klinikai, immunszerológiai jellemzőkkel, a gyulladásos citokin szintekkel és cardiovascularis eseményekkel.

Összesen 125 MCTD-s nőbetegét vizsgáltunk, a kontroll csoportot 48, korban és nemben azonos, autoimmun, endokrin és daganatos betegségben nem szenvedő személy alkotta.

A vizsgálatkor a 125 MCTD-s nőbeteg életkora $53,65 \pm 9,51$ év, az MCTD fennállási ideje $12,96 \pm 7,47$ év volt.

Az MCTD-s betegek átlagos D-vitamin szintje $26,16 \pm 13,5$ ng/ml volt, ami szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a korban és nemben azonos kontroll populációé ($34,92 \pm 9,64$ ng/ml, $p < 0,001$). A 125 MCTD-s beteg 24,8 %-ának volt elégtelen, azaz 20-30 ng/ml közötti a D-vitamin szintje, míg a betegek 34,4 %-a D-vitamin hiányban szenvedett, vagyis D-vitamin szintjük < 20 ng/ml volt.

A szisztolés vérnyomás ($139,76 \pm 22,3$ vs. $128,54 \pm 17,86$ Hgmm; $p = 0,001$), a testtömeg-index ($28,22 \pm 5,46$ vs. $24,85 \pm 4,77$ kg/m²; $p = 0,002$), a teljes koleszterin szint ($6,11 \pm 1,17$ vs. $5,42 \pm 1,02$ mmol/l; $p < 0,001$) szignifikánsan magasabbak voltak MCTD-s betegekben, mint a kontroll csoportban.

Az MCTD-s betegekben az apoA1 szint ($1,44 \pm 0,4$ vs. $1,72 \pm 0,47$ g/l; $p = 0,001$) szignifikánsan alacsonyabb volt a kontrollhoz képest, míg a szérum triglicerid, LDL, HDL és ApoB szintekben nem volt szignifikáns különbség a betegek és kontrollok között.

A homocisztein szint szignifikánsan magasabb volt az MCTD-s betegekben ($15,2 \pm 5,21$ vs. $8,11 \pm 3,16$ μ mol/l; $p < 0,001$).

Az arteria carotisokon mért intima-media vastagság nagyobb volt MCTD-s betegekben a kontrollhoz képest ($0,65 \pm 0,14$ vs. $0,58 \pm 0,08$ mm; $p = 0,001$).

A gyulladást jelző markerek közül a hs-C-reaktív protein ($18,47 \pm 14,81$ vs. $1,41 \pm 1,03$ mg/l; $p < 0,001$) és a fibrinogén szintek

($4,18 \pm 0,98$ vs. $2,99 \pm 1,05$ g/l; $p < 0,001$) MCTD-ben magasabbak voltak, mint a kontroll csoportban.

A thrombomodulin, a vWFAg és endothelin-1 szintek is szignifikánsan emelkedettek voltak MCTD-ben a kontrollhoz képest (TM: $8,06 \pm 9,34$ vs. $3,16 \pm 1,36$ ng/ml; $p < 0,001$, vWFAg: $210,38 \pm 100,95$ vs. $107,43 \pm 31,12$ %; $p < 0,001$, ET-1: $1,04 \pm 1,15$ vs. $0,53 \pm 0,66$ fmol/ml; $p = 0,001$).

A vizsgált IFN- γ , IL-6, IL-12, IL-23, IL-17 és IL-10 citokinek közül valamennyi szérumszintje szignifikánsan magasabb volt MCTD-ben, mint a kontroll csoportban (IFN- γ : $33,4 \pm 22,63$ vs. $13,57 \pm 4,69$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-6: $26,49 \pm 13,25$ vs. $10,00 \pm 4,20$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-12: $148,86 \pm 47,30$ vs. $67,19 \pm 19,59$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-23: $339,83 \pm 131,59$ vs. $87,42 \pm 29,74$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-17: $40,90 \pm 9,52$ vs. $15,52 \pm 5,27$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-10: $19,36 \pm 12,73$ vs. $9,47 \pm 2,89$ pg/ml, $p < 0,001$).

A továbbiakban a betegek D-vitamin szintje és laboratóriumi paraméterei, az MCTD aktivitása és klinikai tünetei közötti összefüggést vizsgáltuk.

A betegek szérumában lévő autoantitestek közül az anti-U1-RNP ($p = 0,001$), az anti-CL IgA ($p = 0,015$) antitestek mutattak szignifikáns összefüggést az alacsony D-vitamin szinttel. Az anti-CL IgG és endothelsejt elleni antitestek (AECA) szintje emelkedett volt MCTD-ben, de ezen antitestek jelenléte és a D-vitamin státusz között nem volt összefüggés ($p = 0,154$, és $p = 0,117$).

A Th1 sejtek által termelt IL-12, IFN- γ és a Th17 sejtek által termelt IL-17 citokin szérumszintje magasabb volt MCTD-ben a kontrollhoz képest, de szintjük független volt a D-vitamin szinttől. Az IL-23 ($p = 0,011$), az IL-6 ($p < 0,001$) és az IL-10 ($p = 0,033$) citokinek szérumszintje azonban szignifikánsan összefüggött a D-vitamin hiánnyal multivariáns lineáris regresszióval vizsgálva.

Az endothelsejt funkciót jelző ET-1 ($p = 0,033$) és TM ($p = 0,001$) szintek valamint az arteria carotis intima-média vastagsága ($p < 0,001$) és a D-vitamin szint között szignifikáns negatív korrelációt találtunk.

A hagyományos cardiovascularis rizikófaktorok közül a D-vitamin szinttel a szérum teljes koleszterin szint ($p = 0,042$), az ApoA1 ($p = 0,004$) és a homocisztein szint ($p = 0,046$) mutatott inverz korrelációt. Továbbá a magas fibrinogén szint is szignifikánsan összefüggött a D-vitamin hiánnyal ($p = 0,010$).

Az MCTD aktivitása magasabb volt az alacsony D-vitamin szinttel rendelkező betegekben ($p=0,001$).

A klinikai tüneteket multivariáns logisztikus regressziós analízissel elemezve a zavaró tényezőkre (életkor, testtömeg-index, családi anamnézis, dohányzás, diabetes mellitus, menopausa, szérumban glükóz szint) történő korrigálás után is a D-vitamin hiány és a cardiovascularis betegség előfordulása között szignifikáns összefüggést észleltünk ($p<0,001$) MCTD-ben.

5. B-sejt abnormalitások MCTD-ben

Az MCTD kórfolyamatában a B-sejtek patogén szerepet játszanak. Az antigén specifikus T-sejt dependens B-sejt válasz eredménye a fokozott antitesttermelés, az anti-U1-RNP antitest jelenléte a betegek szérumban.

A perifériás vér B-sejt alcsoportok vizsgálatát 46 MCTD-s nőbetegen végeztük. A betegek átlagéletkora a vizsgálatkor $53,7\pm 10,6$ év, az MCTD fennállása $10,1\pm 6,2$ év volt. 20 korban és nemből egyező egészséges egyént vizsgáltunk kontroll csoportként (életkor: $53,9\pm 10,2$ év).

Az MCTD aktivitását SLAM score rendszerrel számoltuk ki. Hatnál nagyobb SLAM pontszám esetén tekintettük aktívnak az MCTD-t. A betegek átlagos SLAM score értéke a vizsgálatkor $6,56\pm 3,66$ (r:2-13) volt.

A perifériás vér limfociták kikapuzása után a B-sejteket CD19 marker pozitivitás alapján azonosítottuk. A CD19+ limfociták százalékos aránya és abszolút sejtszáma szignifikánsan alacsonyabb volt MCTD-s betegekben, mint a kontroll csoportban [CD19+ B-sejt %: MCTD és kontroll: $6,7$ ($5,6-8,9$) % vs. $8,9$ ($7,9-10,16$) %, $p<0,001$; abszolút sejtszám: MCTD és kontroll: 152 ($113-197$) sejt/ μ l vs. 215 ($150-197$) sejt/ μ l, $p<0,015$].

A CD19+ limfocitákat a CD27, IgD, CD38 és CD95 sejt felszíni markerek alapján alcsoportokra bontottuk.

MCTD-s betegekben a kontroll csoporthoz képest számos eltérést figyeltünk meg a B-sejt alcsoportok arányaiban: szignifikánsan megnövekedett a naív ($CD27-IgD+CD38^{low}$) és a korai, azaz tranzicionális ($CD19+CD27-IgD+CD38^{high}$) B-sejtek

aránya, továbbá a kettős negatív (CD27-IgD-) B-sejtek és a CD27^{high} plazmasejtek aránya is emelkedett volt a kontrollhoz képest.

A tranzicionális B-sejt a legkoraibb B-sejt alcsoport, ami a perifériás vérben kimutatható. Aktív, kezelés előtti betegekben a tranzicionális B-sejtek százalékos aránya és abszolút száma is magasabb volt az inaktív betegekhez és a kontroll csoporthoz képest [aktív és inaktív MCTD: 6,1 (4,2-11,3) % vs. 3,2 (2,4-5,4) %, $p < 0,009$; abszolút sejtszám: 13,9 (8-30) sejt/ μ l vs. 9 (3-14) sejt/ μ l, $p < 0,045$].

A naív B-sejtek relatív és abszolút száma is magasabb volt az aktív, mint az inaktív betegekben (aktív és inaktív MCTD: 72,0 (62,1-88,3) % vs. 55,3 (45,3-70,2) % $p < 0,002$; 116 (98-145) sejt/ μ l vs. 45 (29-86) sejt/ μ l, $p < 0,001$).

A CD27 és IgD sejtfelszíni markerek alapján különböző típusú memória B-sejteket azonosítottunk. Az Ig izotípusváltás előtti memória B-sejtek CD27+IgD+, az izotípusváltás utáni memória B-sejtek CD27+IgD- fenotípusúak.

Aktív szakban alacsonyabb memória B-sejtszámot észleltünk az inaktív szakhoz képest, de a különbség nem volt szignifikáns [aktív és inaktív MCTD: 17,56 (9,9-30,45) % vs. 16,0 (11,5-36,18) %, $p = 0,885$; abszolút sejtszám: 15 (8-20) sejt/ μ l vs. 18 (8-30) sejt/ μ l, $p = 0,929$].

Az Ig izotípusváltás utáni memória B-sejtek (CD27+IgD-) százalékos aránya és abszolút száma is hasonló volt aktív és inaktív szakban [aktív és inaktív MCTD: 11,18 (6,80-15,70) % vs. 21,2 (9,22-26,63) %, ns; abszolút sejtszám: 12 (6-38) sejt/ μ l vs. 14 (11-38) sejt/ μ l, ns].

A CD27^{high} plazmasejtek aránya aktív szakban szignifikáns emelkedést mutatott az inaktív betegekhez képest [aktív és inaktív MCTD: 1,66 (0,850-2,44) % vs. 0,67 (0,49-0,96) %, $p < 0,001$]. Szoros pozitív összefüggést találtunk a CD27^{high} plazmasejtek aránya és az anti-U1-RNP antitest szérumszintje között ($p < 0,001$).

A közelmúltban a memória B-sejtek egy új csoportját azonosították, melyek a CD27 markert nem expresszálják (CD27-IgD-). A vizsgált MCTD-s betegpopulációban a kettős negatív (CD27-IgD-) B-sejtek aránya magasabb volt, mint a kontroll csoportban, továbbá aktív betegekben az arányuk tovább emelkedett [CD27-IgD- B-sejt: aktív és inaktív MCTD: 7,8 (4,14-10,9) % vs. 3,6 (1,88-5,43) %, $p < 0,001$]. A CD27-IgD- B-sejtek CD95

expressziója szignifikánsan magasabb volt az aktív betegekben, mint az inaktív betegekben és a kontroll csoportban. Szoros összefüggést találtunk a CD27-IgD-CD95+ B-sejtek és az MCTD aktivitása között ($r=0,51$; $p<0,001$).

Eredményeink károsodott B-sejt homeosztázist igazoltak MCTD-ben. Munkánk során az MCTD-s betegekben megnövekedett tranzicionális, naív B-sejt és plazmasejt arányt észleltünk. A memória B-sejtek aránya nem különbözött MCTD-ben a kontrollhoz képest. Mivel a B-sejtek az érés során memória B-sejtté, vagy plazmasejtté differenciálódnak, elképzelhető, hogy a normális memória B-sejt arány a differenciálódás plazmasejt irányába való eltolódásából adódhat. Aktív szakban magasabb tranzicionális, naív B-sejt arányt észleltünk. Szignifikáns eltérés volt a CD27^{high} plazmasejtek arányának növekedése MCTD-ben. Továbbá szoros összefüggést találtunk a CD27^{high} plazmasejtek aránya és az anti-U1-RNP autoantitest szérumszintje között.

ÖSSZEFOGLALÁS

1. Az MCTD jól meghatározott tünettannal és autoantitesttel rendelkező definitív szisztémás autoimmun kórkép. A betegek túlélése a 20 évvel korábbi adatokhoz képest javulást mutatott. A pulmonalis artériás hipertenzió azonban továbbra is vezető halálok maradt MCTD-ben.
A kórlefolyás során új tünetként észleltük az artériás és vénás thrombosisok előfordulását, az antifoszfolipid szindróma (APS) társulását MCTD-hez, a cardiovascularis eltéréseket és a követés során egyre gyakoribb malignus tumorokat.
2. A klaszter analízissel végzett vizsgálataink hozzásegítettek minket ahhoz, hogy az MCTD-n belül fenotípusokat tudjunk elkülöníteni. A betegségre jellemző diagnosztikus anti-U1-RNP antitest mellett más autoantitestek - mint az endothelsejt elleni antitestek, anti-CL és anti-CCP - meghatározzák a betegség jellemzőit és a kórlefolyást. Eredményeink azt mutatják, hogy az anti-U1-RNP, az endothelsejt elleni antitest és az anti-CL együttese provokálja a legsúlyosabb vasculáris eltéréseket, mint a PAH, míg az anti-U1-RNP és az anti-CCP antitest fontos faktor lehet az erózív arthritis kialakulásában. Az immunkomplex képződés és a komplement komponensek jelenléte összefügg az interstitialis tüdőbetegséggel és a myositissel MCTD-ben. Eredményeink alapján az autoantitest profil és a klinikai tünettannal MCTD-ben segít azonosítani a prognosztikus faktorokat, fontos szerepe van a mortalitás és a túlélés valószínűségének megítélésében. Megfigyelésünk és véleményünk, hogy a klaszter analízis segít a korai terápia megválasztásában is, ezáltal javíthatja a betegek életminőségét és a betegség kimenetelét is.
3. Elsőként vizsgáltuk az immunmediálta halláscsökkenés előfordulását MCTD-ben. Megfigyeléseink arra utalnak, hogy a betegek szérumában az anti-U1-RNP és a foszfolipid struktúrák ellen termelődő patogén autoantitestek jelenléte mellett a természetes regulatórikus T-sejtszám csökkenés, és a Th1 típusú citokinek magas szérumszintje provokáló tényező lehet az MCTD-ben észlelt immunmediálta halláskárosodás

létrejöttében. Vizsgálatunkkal arra szeretnénk felhívni a figyelmet, hogy a hallásvizsgálat elengedhetetlen része a szisztémás autoimmun kórképekben szenvedő betegek követésének, amire a gondozáskor fokozottabb figyelmet érdemes fordítani.

4. Tanulmányunkban elsőként írtuk le, hogy MCTD-s betegekben gyakori a D-vitamin hiány előfordulása, továbbá az alacsony D-vitamin szint hozzájárulhat az MCTD-s betegekben észlelt cardiovascularis betegségek magas prevalenciájához. A D-vitamin hiány a hagyományos cardiovascularis rizikófaktorok mellett az autoantitestek és gyulladásos citokin szintek befolyásolása révén is hozzájárul a cardiovascularis esemény bekövetkezéséhez. Feltételezzük, hogy MCTD-ben a folyamatosan fennálló gyulladás károsítja az ereket, és felgyorsítja az atherosclerosist, a társuló lipid abnormalitások pedig hozzájárulnak a progresszióhoz. Eredményeink alapján a nem megfelelő D-vitamin szint egyaránt kiemelkedő szerepet játszik a gyulladásos folyamatban és a cardiovascularis betegség megnövekedésében.
5. MCTD-ben először vizsgáltuk a perifériás vér B-sejt alcsoportjainak megoszlását. Eredményeink károsodott B-sejt homeosztázist igazoltak MCTD-ben. A betegség aktivitásától függően a B-sejt alcsoportok megoszlása eltérő az egészséges populációhoz képest. Aktív MCTD-s betegekben megnövekedett a tranzicionális, a naív B-sejtek aránya, továbbá a plazmasejtek és a kettős negatív B-sejtek aránya is szignifikáns emelkedést mutatott. Összefüggést találtunk a plazmasejtek és az anti-U1-RNP antitest szérumszintje között MCTD-ben. Az eredmények a B-sejtek patogén szerepét támasztják alá MCTD-ben. A B-sejt alcsoportok vizsgálata fontos paraméter lehet az aktivitás megítélésében és monitorozásában MCTD-ben.

Iktatószám: DEENKÉTK/330/2013.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Hajas Ágota Helga

Neptun kód: S5IM03

Doktori Iskola: Petrányi Gyula Klinikai Immunbiológiai és Allergológiai Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Hajas, Á.**, Szodoray, P., Nakken, B., Gaál, J., Zöld, É., Laczik, R., Demeter, N., Nagy, G., Szekanecz, Z., Zeher, M., Szegedi, G., Bodolay, E.: Clinical course, prognosis, and causes of death in mixed connective tissue disease.
J. Rheumatol. 40 (7), 1134-1142, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3899/jrheum.121272>
IF:3.258 (2012)
2. **Hajas, Á.**, Baráth, S., Szodoray, P., Nakken, B., Gogolák, P., Szekanecz, Z., Zöld, É., Zeher, M., Szegedi, G., Bodolay, E.: Derailed B cell homeostasis in patients with mixed connective tissue disease.
Hum. Immunol. 74 (7), 833-841, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2013.04.007>
IF:2.298 (2012)
3. Szodoray, P., **Hajas, Á.**, Kardos, L., Dezső, B., Soós, G., Zöld, É., Végh, J., Csípő, I., Nakken, B., Zeher, M., Szegedi, G., Bodolay, E.: Distinct phenotypes in mixed connective tissue disease: Subgroups and survival.
Lupus. 21 (13), 1412-1422, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0961203312456751>
IF:2.783
4. **Hajas, Á.**, Sándor, J., Csáthy, L., Csípő, I., Baráth, S., Paragh, G., Seres, I., Szegedi, G., Shoenfeld, Y., Bodolay, E.: Vitamin D insufficiency in a large MCTD population
Autoimmun. Rev. 10 (6), 317-324, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2010.11.006>
IF:6.624



5. **Hajas, Á.**, Szodoray, P., Baráth, 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. 36 (9), 1930-1936, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3899/jrheum.081314>
IF:3.854



További Közlemények

6. Zöld, É., Szodoray, P., Nakken, B., Baráth, S., Kappelmayer, J., Csáthy, L., **Hajas, Á.**, Sipka, S., Gyimesi, E., Gaál, J., Barta, Z., Hallay, J., Szegedi, G., Bodolay, E.: Alfacalcidol treatment restores derailed immune-regulation in patients with undifferentiated connective tissue disease. *Autoimmun. Rev.* 10 (3), 155-162, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2010.09.018>
IF: 6.624
7. Soltész, P., Bereczki, D., Szodoray, P., Magyar, M.T., Dér, H., Cspő, I., **Hajas, Á.**, Paragh, G., Szegedi, G., Bodolay, E.: Endothelial cell markers reflecting endothelial cell dysfunction in patients with mixed connective tissue disease. *Arthritis Res. Ther.* 12 (3), R78, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/ar2999>
IF: 4.357
8. Zöld, É., Szodoray, P., Kappelmayer, J., Gaál, J., Csáthy, L., Baráth, S., Gyimesi, E., **Hajas, Á.**, Zeher, M., Szegedi, G., Bodolay, E.: Impaired regulatory T-cell homeostasis due to vitamin D deficiency in undifferentiated connective tissue disease. *Scand. J. Rheumatol.* 39 (6), 490-497, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/03009741003781951>
IF: 2.594

Összesített impakt faktor: 32.392

Összesített impakt faktor: (értekezés alapjául szolgáló közlemények esetén): 18.817

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

Debrecen, 2013.10.16



Az értekezéshez kapcsolódó előadások és poszter prezentációk:

1. **Hajas A**, Szodoray P, Demeter N, Zold E, Dezso B, Csipo I, Tumpek J, Bodolay E: Mixed connective tissue disease (MCTD): phenotypes and immunological characteristics
XXVIII Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Warsaw, 2009. 06.
2. **Hajas Á**, Dezső B, Csípő I, Tumpek J, Végh J, Gyetvai Á, Bodolay E: Alcsoportok kevert kötőszöveti betegségben (MCTD): fenotípus jellemzők, autoantitestek és biológiai markerek
MAKIT Konferencia (Magyar Allergológiai és Klinikai Immunológiai Társaság), Balatonalmádi, 2009. 05.
3. Zöld E, Szodoray P, Gaál J, Kappelmayer J, Csáthy L, Baráth S, Gyimesi E, **Hajas Á**, Zeher M, Szegedi G, Bodolay E: A D-vitamin károsított regulatív T-sejt-működésre kifejtett hatásának vizsgálata nem differenciált collagenosisban
MRE (Magyar Reumatológusok Egyesülete) Vándorgyűlés, Kecskemét, 2009.
4. **Hajas A**, Szodoray P, Zold E, Csipo I, Zeher M, Szegedi G, Bodolay E: Distinct phenotypes in mixed connective tissue disease: subgroups and survival.
Autoimmunity 2010 Congress, Ljubljana, 2010. 05.
5. Zold E, Szodoray P, Csathy L, Barath S, Gyimesi E, **Hajas A**, Zeher M, Szegedi G, Bodolay E: Impaired regulatory T-cell homeostasis due to vitamin D deficiency in undifferentiated connective tissue disease.
Autoimmunity 2010 Congress, Ljubljana, 2010. 05.
6. **Hajas A**, Zold E, Vegh J, Csipo I, Bodolay E: 25-hydroxivitamin D és cardiovascularis rizikófaktorok MCTD-s nőbetegekben.
MAKIT, Balatonalmádi, 2010. 05.

7. **Hajas A**, Szodoray P, Zold E, Csipo I, Zeher M, Szegedi G, Bodolay E: Distinct phenotypes in mixed connective tissue disease: subgroups and survival.
8th CECR, Sopron, 2010.09.
8. Zold E, Barath S, Kappelmayer J, Csathy L, Gyimesi E, **Hajas A**, Zeher M, Szegedi G, Bodolay E: The effect of of the different doses of alfacalcidol on regulatory T-cells in patients with undifferentiated connective tissue disease.
8th CECR, Sopron, 2010.09.
9. **Hajas A**, Zeher M, Bodolay E: Distinct phenotypes in mixed connective tissue disease.
Congress of ÖGAI, Vienna, 2010, 12.
10. **Hajas Á**, Baráth S, Tarr T, Sipka S, Szegedi Gy, Bodolay E: B-sejt abnormalitások MCTD-ben
MAKIT, Balatonalmádi, 2011.05.
11. **Hajas Á**, Soltész P, Tóth L, Griger Z, Baráth S, Zöld É, Bodolay E: Kevért kötőszöveti betegség és antifoszfolipid-szindróma társulása: kézujjak necrosis és lábszárfekély sikeres kezelése plazmaferezissel és cyclophosphamiddal.
MRE, Budapest 2012.10.
12. **Hajas A**, Szodoray P, Nakken B, Nagy G, Demeter N, Gaál J, Szekanecz Z, Szegedi G, Bodolay E: Clinical course, prognosis and causes of death in mixed connective tissue disease.
CORA (Controversies in Rheumatology and Autoimmunity), 2013. 04.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Bodolay Edit Professzornőnek mindazért a sok segítségéért, amit a munkám megtervezése, kivitelezése, elkészítése és összeállítása során nyújtott. Köszönöm, hogy megismertette velem a tudományos munka alapjait, és önzetlen segítségével folyamatos iránymutatást nyújtott már az egyetemi éveimtől kezdődően. A szakmai munkában nyújtott segítségén túl külön köszönetet mondok témavezetőmnek az emberi támogatásért, biztatásért, bizalomért, amit irányomba tanúsított.

Köszönettel tartozom Szegedi Gyula Professor Úrnak a munka során nyújtott szakmai tanácsáért, segítségéért.

Köszönetet mondok főnökömnek, Merkely Béla Professor Úrnak, hogy támogatta a tudományos munkám folytatását.

Köszönetemet fejezem ki a Klinikai Immunológiai Tanszék vezetőjének, Zeher Margit Professzornőnek, hogy lehetőséget adott számomra a munka elkészítéséhez.

Köszönettel tartozom Dr. Szodoray Péternek a szakmai segítségéért.

Köszönöm Sipka Sándor Professor Úrnak, a Regionális Immunológiai Labor összes dolgozójának a segítségét, külön hálával tartozom Dr. Baráth Sándornak a mérésekben nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért.

Köszönöm Kappelmayer János Professor Úrnak, Dr. Csáthy Lászlónak a laboratóriumi méréseket.

Köszönöm Hódosi Katalinnal a PhD munkám során nyújtott segítségét.

Végezetül köszönöm Szüleimnek, családomnak, férjemnek a nélkülözhetetlen, támogató segítségét.