

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Regulatív T-sejtek vizsgálata poliszisztémás autoimmun kórképekben és
Hodgkin lymphomában**

Baráth Sándor

Témavezető: Prof. Dr. Sipka Sándor
Programvezető: Prof. Dr. Zeher Margit, Prof. Dr. Szegedi Gyula

DEBRECENI EGYETEM, ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM, ÁOK,
III.SZ. BELGYÓGYÁSZATI KLINIKA, REGIONÁLIS IMMUNOLÓGIAI
LABORATÓRIUM
Debrecen, 2006

Bevezetés

A regulatív T-sejtek általános jellemzői

Az immunrendszer elemeinek feladata, hogy különbséget tegyen a saját és nem saját struktúrák között. Fel kell ismernie és eltávolítania a szervezet számára idegen anyagokat (antigéneket, Ag), amelyek esetleg veszélyeztethetik a szervezetet. Az Ag eltávolításának folyamatát az immunrendszer sokrétű, bonyolult regulatív mechanizmusai ellenőrzik. Ebben a rendszerben kulcsszerepet töltenek be az úgynevezett regulatív T-sejtek. Ezek a sejtek képesek az Ag eltávolításában résztvevő effektor sejtek proliferációjának és funkciójának gátlására. Ma, legkevesebb három fő csoportjukat különítjük el, így a $CD4^+CD25^{+bright}$ szuppresszor T-sejteket, az IL-10 termelő $CD4^+$ ún. Tr1 típusú, valamint a TGF- β termelő Th3 típusú sejteket. Ismertek még egyéb, kevésbé jól jellemzett, regulatív funkcióval rendelkező sejtcsoportok.

A legjobban jellemzett regulatív T-sejt csoport, a tímusz eredetű, ún. természetes $CD4^+CD25^{+bright}$ regulatív T-sejtek (nTreg). A $CD4^+CD25^{+bright}$ T-sejtek mintegy 5-10%-át alkotják a perifériás $CD4^+$ sejteknek. A sejtcsoportot először Sakaguchi és mtsai írták le 1995-ben. Jelentőségüket mutatja, hogy a $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek számában bekövetkező növekedés csökkent effektor funkciót eredményezve krónikus infekcióhoz, tumorok kialakulásához vezethet. Azonban, ha a természetes regulatív T-sejtek száma csökken, a fokozott immunválasz következtében autoimmun betegség, allergia, transzplantáció esetén a beültetett szerv kilökődése következhet be.

Számos próbálkozás történt és történik ma is a $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek minél pontosabb fenotípusos jellemzésére. A csak erre a sejtcsoportra specifikus molekulák száma meglehetősen kevés. A sejtek legjellemzőbb sejt felszíni molekulája az interleukin receptor α -láncát képező CD25 molekula, amely azonban az aktivált T-sejteken is megjelenik, habár ott az expressziós szintje alacsonyabb. Szintén jellemző, de nem egyedi sejt felszíni receptorok a GITR, CTLA-4, galectin-1, CD38, CD62L, OX-40L, CD103, TNFR2 és TGF- β R1. Nem receptor funkciójú, de a $CD4^+CD25^{+bright}$ sejteken is megtalálható molekulák a CD5, L-selectin, CD45RO. A nemrég felfedezett FoxP3 (forkhead box transzkripció faktor) és a LAG-3 (limfocita aktivációs gén-3) molekulák, lényegi szerepet töltenek be a $CD4^+CD25^{+bright}$ T-sejtek fejlődésében. Az eddigi vizsgálatok azt mutatják, hogy ezen molekulák termelődése szinte kizárólagosan a $CD4^+CD25^{+bright}$ T-sejtekre jellemző, ezért fontos szerepük van e sejtek azonosításában.

A természetes regulatív T-sejtek fejlődésük során a tímusz velőállományában, illetve a kötőszöveti szeptumok környezetében halmozódnak fel. Keletkezésükhöz a T-sejt receptor (TCR) és a tímusz alapszöveti sejtjei által expresszált MHC-II + saját peptid komplex közepesen erős kölcsönhatása szükséges. A génmódosított egereken végzett vizsgálatok azt mutatják, hogy a CD28, CD40 és az IL-2 molekulák szintén fontos szerepet töltenek be a természetes regulatív sejtek fejlődésében. Azonban úgy tűnik, a legnagyobb jelentősége, a FoxP3 transzkripció faktorának van. Hiányában több szervet érintő végzetes autoimmun megbetegedés, az ún. IPEX (immundiszreguláció, poliendocrinopathia, enteropathia, X-hez kötött szindróma) alakulhat ki. A FoxP3 molekula bizonyos citokinek – mint pl. az IL-2 – termelődését gátolja, kimutatták, hogy IL-10, IL-2 és TGF- β hatására hasonló, szuppresszor aktivitással rendelkező sejtek a periférián is keletkezhetnek. Ezeket a sejteket indukálható regulatív sejteknek (iTreg) nevezzük. Ide tartoznak a Tr1 és a Th3 típusú sejtek, melyek hatásukat citokinek, IL-10 és TGF- β révén fejtik ki. A különbség az egyes regulatív sejtek csoportjai között ma még nem teljes egészében tisztázott. Roncarolo és mtsai a Tr1 típusú elnevezést javasolják minden olyan IL-10 termelő sejt típusra, amelyek proliferációja IL-10-el

indukálható és regulatív aktivitást mutatnak. A humán és egér kísérletek egyaránt alátámasztják a jelentőségüket az adaptív immunitás szabályozásában.

Meg kell jegyeznünk, hogy egerekben a CD4⁺CD25⁺ sejtek csoportja egységes, a szuppresszor aktivitás tekintetében homogén sejtpopulációt képez. Ezzel ellentétben a humán CD4⁺CD25⁺ sejteknek két csoportja különíthető el a CD25 molekula expressziója alapján. Kiderült, hogy ez a két sejtcsoport a szuppresszor aktivitás tekintetében is különbözik. A CD25 molekulát nagy mennyiségben termelő sejtek (CD25^{bright}), az egér sejtpopulációhoz hasonlóan, képesek az effektor sejtek proliferációját gátolni. Ilyen, szuppresszor aktivitással a CD25 molekulát kisebb mennyiségben kifejező (CD25^{alacsony}) sejtek nem rendelkeznek. A CD25^{bright} T-sejtek csoportja emellett erős FoxP3 pozitivitást mutat.

A szuppresszor sejtek pontos hatásmechanizmusa még nem ismert. Az adaptív és természetes immunrendszer elemeit egyaránt képesek kontrollálni. Kevert limfocita kultúrákkal folytatott kísérletek eredményei azt mutatják, hogy a CD4⁺CD25^{bright} T-sejtek gátolják a CD4⁺ és CD8⁺ sejtek proliferációját és citokin termelését, valamint befolyásolják a dendritikus sejtek és a monociták antigén prezentáló funkcióját. Az aktivációjukhoz szükséges a TCR stimulust és az IL-2 jelenléte, hatásuk azonban már független a célsejt antigén specificitásától. Funkciójukat sejt-sejt kölcsönhatás révén érik el, s nem szükséges hozzá citokin jelenléte. Egyes irodalmi adatok arra utalnak, hogy a TGF- β szerepet játszhat a folyamatban, de inkább sejtfelszínhez kötött és nem szolúbilis formában. *In vitro* vizsgálatok alapján úgy tűnik, a CD80 és CD86 molekulák kölcsönhatása a CTLA-4 molekulával, szintén a hatásmechanizmus részét képezi. Egy másik lehetséges módja a CD4⁺CD25^{bright} T-sejtek hatásmechanizmusának a sejtek citolitikus aktivitása. Erre utal az a vizsgálat, amelyben a természetes regulatív T-sejtek CD3 és CD46 általi aktivációja granzym-A termelést váltott ki, s perforin függő, de Fas-FasL független módon a CD4⁺, illetve a CD8⁺ sejtek pusztulását eredményezte.

Az optimális immunválasz kialakulásához elengedhetetlen, hogy a CD4⁺CD25^{bright} T-sejtek funkciója is kontrollálva legyen. Ebben a folyamatban – eddigi ismereteink szerint - az effektor sejteken megjelenő GITR (glükokortikoid indukált tumor nekrozis faktor) molekula és az antigén prezentáló sejtek (APC) által expresszált GITR ligand valamint az IL-6 molekula játszhat szerepet.

Szisztémás lupus erythematosus (SLE)

Az SLE igen változatos tüneteket okozó, ismeretlen kórereditű krónikus, szisztémás autoimmun megbetegedés. Főként fiatal nőket érint. Jellemzője a nem deformáló arthritis, láz vagy hőemelkedés, gyorsult vérsenküllyedés, leukopenia, bőr-nyálkahártya tünetek (pl. pillangóerythema), savóshártyagyulladások, vese-, idegrendszeri-, cardiovascularis-, hematológiai és egyéb szervi eltérések. Általános a B-sejtek hiperreaktivitása, amely nagy mennyiségű DNA-, Sm-, foszfolipid-típusú és számos egyéb autoantigénnel szembeni autoantitest termelésével, keringő és deponálódó immunkomplexekkel valamint a T-sejt anomáliákkal jár együtt.

Kevert kötőszöveti megbetegedés (MCTD)

A kevert kötőszöveti megbetegedés olyan önálló poliszisztémás autoimmun betegség, amely a négy klasszikus autoimmun kórkép, úgymint SLE, progresszív szisztémás sclerosis, rheumatoid arthritis és a polimyositis-dermatomyositis egy-egy jellegzetes tünetének

társulása jellemez. A változatos tünetcsoportot mutató betegek közös jellemvonása, hogy az extrahálható nukleáris antigén ribonukleoprotein komponense (U1 RNP) ellen termelődött autoantitest kimutatható a betegek szérumában. Hassan és mtsai emelkedett TNF- α és IL-10 szintet mutattak ki az MCTD-s betegeknél, amely immunregulációs rendellenességre utal. A betegek perifériás vérében szintén növekedett az intracitoplazmatikus IL-10 termelő CD4⁺ sejtek száma.

Hodgkin lymphoma

Malignus limfoproliferatív megbetegedés, amely típusos klinikai és morfológiai jellemzőkkel bír. A betegség monoklonális B-limfocita eredetű és alapvetően két fő csoportra osztható. A noduláris lymphocyt praedomináns formára és a klasszikus Hodgkin lymphomára. Ez utóbbi további négy, jól elkülöníthető morfológiai szubtípusra bontható, úgymint lymphocitadús (LRcHL), nodular sclerosis (NSHL), kevert sejtes (MCHL) és lymphocita depléciós (LDHL) forma. A klasszikus Hodgkin lymphomában a HRS sejtek csak kis százalékát (1-2%) képezik a tumornak, a fennmaradó többséget limfociták, eosinophilok, fibroblastok, markofágok és plazmasejtek képezik. Gyakori tünetei a láz, fogyás, éjszakai izzadás, bőrviszketés valamint a sejt közvetített immunválasz defektusa.

Az autoimmun betegségek és a regulatív T-sejtek kapcsolata

A CD4⁺CD25^{+bright} T-sejtek immunregulációs fontosságát számos egérkísérlet igazolta. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a regulatív T-sejtek eltávolítása a szervezetből autoimmun betegség kialakulásához vezethet. Ezzel szemben, ha a regulatív T-sejtek hiányoznak az egyedből, CD4⁺CD25^{+bright} T-sejtek bejuttatása segít megelőzni az olyan betegségek kialakulását, mint a colitis, gastritis, inzulin függő autoimmun diabetes és thyroiditis.

A CD4⁺CD25^{+bright} T-sejtek humán autoimmun betegségekben betöltött szerepéről még hiányosak az ismereteink. Az eddigi közlemények főként a CD4⁺CD25^{+bright} T-sejtek csökkent arányáról vagy csökkent mértékű szuppresszor funkciójáról számolnak be. Azonban van néhány olyan eredmény is amelyek ennek látszólag ellentmond. Ezeket az esetleges ellentmondásokat a szabályozási mechanizmus teljes folyamatának betegségre specifikus eltéréseinek jobb megértése oldhatja fel.

A természetes CD4⁺CD25^{+bright} T-sejtek számának csökkenését figyelték meg sclerosis multiplexben, Kawasaki betegség esetén, 1-es típusú diabetesben és SLE-ben. A rheumatoid arthritisben szenvedő betegek synoviális folyadékában a CD4⁺CD25^{+bright} T-sejtek száma emelkedett a perifériás vérhez képest. Ugyanakkor, a szuppresszor aktivitás mértékében nem volt különbség az RA-s betegek és az egészséges személyek CD4⁺CD25^{+bright} sejtjei között. Emelkedett a regulatív T-sejtek száma primer Sjögren szindrómában is, azonban a betegség aktivitásának csökkenésével a CD4⁺CD25^{+bright} sejtek száma csökkent. Hodgkin lymphoma esetén a regulatív T-sejtek emelkedett számát mutatták ki a tumor területén. A CD4⁺CD25^{+bright} sejteken keresztül megvalósuló immunreguláció defektusára utal az is, hogy a CD4⁺CD25^{+bright} T-sejtek kevésbé gátolták a CD4⁺CD25⁻ sejtek proliferációját sclerosis multiplexben, SLE-ben és myasthenia gravisban.

Az immunológiai szabályozási folyamat jobb megértését elősegítheti, ha minél több betegségre vonatkozóan ismerünk adatokat a regulatív sejtekről. Kevés irodalmi adat áll rendelkezésre – vagy nincs adat – olyan autoimmun betegségek esetén, mint az MCTD vagy a Hodgkin lymphoma.

Célkitűzések

Munkánk során a regulatív típusú sejtek két fő alcsoportjának, az ún. természetes regulatív CD4⁺CD25^{+bright} T-sejtek és az indukálható, IL-10 termelő CD4⁺ Tr1 típusú T-sejtek szerepét igyekeztünk megismerni poliszisztémás autoimmun kórképek és tumoros megbetegedések esetén. Két poliszisztémás autoimmun kórkép, a szisztémás lupus erythematosus (SLE) és a kevert kötőszöveti betegség (MCTD), illetve egy limfoproliferatív elváltozás, a Hodgkin lymphoma esetén vizsgáltuk ezen regulatív sejtek előfordulási arányát a betegek perifériás vérében. A vizsgálataink megkezdésekor még nem állt rendelkezésre irodalmi adat a regulatív T-sejtekre vonatkozólag az említett kórképekben, ezért vizsgálataink céljait az alábbiakban határoztuk meg:

1.) Az irodalmi adatok hiánya miatt, célunk volt alapadatokat szolgáltatni a regulatív T-sejtek számának esetleges változásairól a fent említett kórképekben.

2.) Kérdésünk volt, hogy kimutatható-e eltérés a regulatív T-sejtek számában, illetve százalékos arányában - különös tekintettel a CD4⁺CD25^{+bright} szuppresszor sejtekre – SLE-ben? Megállapítható-e valamilyen korreláció a betegség aktivitásának jellemzői (SLE-DAI, anti-dsDNA koncentráció) és a regulatív T-sejtek számbeli változása között? A súlyos SLE-s betegeknek alkalmazott alternatív kezelési mód, a plazmaferézis, gyakorol-e valamilyen hatást a betegek CD4⁺CD25^{+bright} regulatív T-sejtjeinek abszolút számára?

3.) A kevert kötőszöveti betegségben a módosult immunregulációra utaló jelek megfigyelhetők, de az irodalomban nem található semmilyen utalás a regulatív T-sejtek MCTD-ben betöltött szerepét illetően. Kimutatható-e változás a regulatív T-sejtek számában egy ilyen összetett poliszisztémás autoimmun betegség esetében is?

4.) Hodgkin lymphomában szintén számos jel utal egy felfokozott immunszuppresszív állapotra, s annak szerepére a betegség pathogenezisében. Ezért kezdtük el vizsgálni, hogy igazolható-e a regulatív T-sejtek fokozott jelenléte a periférián komplett remisszióban lévő betegek esetén, s ez mutat-e összefüggést a korábban alkalmazott terápiákkal vagy a kezelés óta eltelt idővel.

Betegek és módszerek

Szisztémás lupus erythematosus (SLE)

Munkánk során 72 lupus-os beteg (63 nő és 9 férfi) adatait elemeztük. Minden betegről elmondható, hogy az ACR klasszifikációs kritériumrendszer legalább 4 pontjának megfelelt. A tanulmány idején az átlagéletkoruk $34,4 \pm 13,9$ év, a betegség fennállásának ideje $9,4 \pm 8,12$ év volt. A betegek között 53 személy volt a betegség inaktív és 19 személy volt az aktív stádiumában. Az inaktív stádiumban lévő betegek aktivitási indexe < 5 , az aktív stádiumban lévőké ≥ 5 volt. Az aktív stádiumú betegnél a betegség fennállása rövidebb volt, alacsonyabb volt az átlagéletkor és magasabb SLEDAI értékkel, valamint magasabb anti-dsDNA koncentrációval rendelkeztek. Kontroll csoportként 41 korban és nemben illeszkedő, egészséges személy adatait használtuk.

Ismételt plazmaferézis kezelésen átesett, súlyos SLE-s betegek ($n=5$) esetén vizsgáltuk a plazmaferézis $CD4^+CD25^{bright}$ sejtek abszolút számára gyakorolt hatását.

Kevert kötőszöveti betegség (MCTD)

A tanulmány során $n=48$ MCTD-s beteg (47 nő és 1 férfi) perifériás vérében vizsgáltuk a regulatív sejtek megoszlását. A betegek átlag életkora 53 év (± 7 év) volt. A betegség fennállásának ideje 13 ± 7 év. Az MCTD diagnózisának felállítása az Alarcon-Segovia és Villareal kritériumrendszere alapján történt. A betegség aktivitásának méréséhez a SLAM indexet használtuk. A kontroll csoportot 20 egészséges nőbeteg alkotta.

Hodgkin lymphoma

A vizsgálathoz $n=94$ (52 nő, 42 férfi) komplett remisszióban lévő, citosztatikumot, immunszuppresszív szert nem szedő Hodgkin lymphomás (HL) beteget választottunk ki véletlenszerűen. Fontos kritérium volt, hogy a betegek a tanulmányt megelőző 3 évben nem kaptak radioterápiát, illetve nem mentek keresztül őssejttranszplantáción. A HL átlagos fennállásának ideje 8,2 év volt (3-33 év). A betegek átlagéletkora 44 év (20-77). A betegek közül 54 beteg volt Epstein-Barr vírus pozitív és 40 negatív. A betegség I-II. stádiumába 39, a III-IV. stádiumba 55 beteg tartozott. A korban és nemben megegyező kontroll csoportot $n=41$ egészséges személy alkotta, ezen kívül $n=47$ emlő tumoros nőbeteg esetében (mint pozitív kontroll csoport) vizsgáltuk a regulatív sejtek számát.

Sejtfelszíni molekulák vizsgálata áramlási citometriával

A vizsgálatokhoz heparinnal alvadásgátolt vérmintákat, illetve ezekből Ficoll gradiens centrifugálással izolált perifériás mononukleáris sejteket használtunk. Az alvadásgátolt vérmintákból 100 μ l-t 25 percig inkubáltunk a fluoreszcens festékekkel konjugáltatott monoklonális ellenanyagokkal. A sejtfelszíni jelölésekhez az alábbi ellenanyagokat használtuk CD3, CD4, CD8, CD19, CD25, CD56, HLA-DR. Az inkubálást követően a vörösvértesteket lizáltuk, majd a sejteket a mosási lépés végén 1 %-os paraformaldehiddel fixáltuk.

A $CD4^+CD25^{bright}$ sejtek FoxP3 pozitivitását intracitoplazmatikus festéssel, anti-FoxP3 monoklonális antitest felhasználásával igazoltuk. Az intracitoplazmatikus jelölés perifériás vérből Ficoll gradiens centrifugálással izolált mononukleáris sejteken történt. A sejteket az izolálás után PBS-ben mostuk, majd egy éjszakán keresztül inkubáltuk -20°C -on,

az intracitoplamatikus festéshez alkalmazott kit „A oldatában”. Másnap a sejtszuspenziót kiolvasztottuk, centrifugáltuk, majd a „B oldatba” felvéve 4 °C-on inkubáltuk 20 percig. Centrifugálást követően a 10^7 sejtet felszuszpendáltunk 1 ml „staining pufferben” és 100 µl-ként szélesztottuk Falcon csövekbe. A sejteket 15 percig inkubáltuk sötétben, szobahőmérsékleten 20 µl „blocking pufferrel”. A FoxP3 és sejtfelszíni molekulák jelölése egyidejűleg történt, 30 percig szobahőmérsékleten inkubálva. Ezt követően a sejteket „staining pufferbe” vettük fel.

Statisztikai analízis

A statisztikai számításokat az SPSS 11.0 szoftver segítségével végeztük. Az adatok elemzéséhez Student-féle t-próbát, nem normál eloszlás esetén Mann-Whitney és Kruskal-Wallis tesztet használtunk. Minden esetben a $p < 0,05$ értéket fogadtuk el szignifikánsnak.

Eredmények

Szisztémás lupus erythematosus

Megvizsgáltuk 72 SLE-s beteg perifériás vérében a $CD4^+CD25^{+bright}$ és a $CD4^+IL-10^+$ T-sejtek százalékos arányát és abszolút számát. A $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek százalékos aránya és abszolút száma egyaránt szignifikáns mértékű csökkenést mutatott az SLE-s betegekben szemben az egészséges, kontroll csoporttal (medián: 3,07% (alsó kvartilis: 2,08, felső kvartilis: 4,22) vs. 4,31% (3,40, 4,91), $p < 0,001$; 0,016 G/l (0,009,0,026) 0,038 G/l (0,0257, 0,048)) $p < 0,001$. A $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek számában nem találtunk különbséget az aktív és inaktív stádiumban lévő betegek között (aktív: 3,24% (1,99, 4,25), 0,012 G/l (0,007, 0,024); inaktív: 3,07% (2,08, 4,07), 0,017 G/l (0,011, 0,026).

A $CD4^+IL-10^+$ sejtek százalékos aránya emelkedést mutatott, ugyanakkor az abszolút számukban nem találtunk szignifikáns eltérést a kontroll csoporthoz viszonyítva. Az aktív és inaktív stádiumú betegek között nem mutatkozott eltérés a $CD4^+IL-10^+$ sejtek számában.

A betegség aktivitási index, az anti-dsDNS szint és a napi kortikosteroid dózisa nem mutatott korrelációt a vizsgált sejtcsoportok számának változásával. Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a SLE-DAI és az anti-dsDNS szint (r: 0,505, $p < 0,001$), az SLE-DAI és a napi kortikosteroid dózisa (r: 0,499, $p < 0,001$) valamint az anti-dsDNS koncentráció és a napi kortikosteroid dózisa (r: 0,367, $p = 0,002$) között.

Ezt követően öt súlyos, SLE-ben szenvedő betegnél a plazmaferézis $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtekre gyakorolt hatását vizsgáltuk. A betegek 2-4 alkalommal kaptak plazmaferézis kezelést. A $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek száma a kezelést megelőzően minden betegnél alacsonyabb volt, mint az egészséges kontroll csoportban, s már az első kezelést követően emelkedés volt kimutatható. Az utolsó kezelés után 24 órával megvizsgálva a $CD4^+CD25^{+bright}$ szuppresszor T-sejtek százalékos értékét és abszolút számát, a kezdeti, azaz a kezelés előtti érték többszörösét tapasztaltuk (átlag: $0,093 \pm 0,026$ vs. $0,016 \pm 0,006$; $p < 0,01$). A $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek számának emelkedésével a betegség aktivitási index (SLE-DAI) csökkent.

Szerettük volna kizárni, hogy a $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek számbéli emelkedése nem a plazmacserélés során bekövetkezett sejtkoncentráció változásból ered. Ezért megvizsgáltuk a $CD4^+$ és $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek számát a teljes limfocita szám változások függvényében. A $CD4^+$ sejtek száma követte a limfocita szám változást, azonban a $CD4^+CD25^{+bright}$ sejt száma emelkedést mutatott a $CD4^+$ sejteken belül, kezelésről kezelésre. Ez azt mutatja, hogy a plazmaferézis során olyan változások következnek be, amelyek képesek a szuppresszor sejtek proliferációját elősegíteni.

Kevert kötőszöveti betegség

MCTD-s betegek perifériás vérében a CD4⁺CD25^{bright} sejtek abszolút száma és százalékos aránya szignifikánsabban alacsonyabb volt mint a kontroll csoportban (3,5±1,6% vs. 4,26±3,10%, p<0,01; 0,033±0,017 G/L vs 0,043±0,016 G/L, p<0,04). Az aktív fázisban lévő betegek perifériás CD4⁺CD25^{bright} T-sejtek abszolút száma és százalékos értéke szignifikáns mértékben csökkent az inaktív szakaszban lévő betegekhez képest (2,67±1,2% vs 4,0±1,5%; p<0,001; 0,022±0,011 G/L vs 0,035±0,018 G/L; p<0,01). A CD4⁺IL-10⁺ sejtek százalékos aránya és abszolút száma szignifikáns mértékű emelkedést mutatott az MCTD-s betegeknél összehasonlítva a kontroll csoporttal (6,1±4,4% vs 2,2±0,63%, p<0,002; 0,119±0,09 G/L vs 0,062±0,02 G/L; p<0,02). Az aktív szakaszban lévő MCTD-s betegek CD4⁺IL-10⁺ T-sejtjeinek százalékos aránya emelkedést mutatott az inaktív szakaszban lévő betegekkel összehasonlítva (10,0±5,9%, vs 4,9±5,9%; p<0,005). Az abszolút számokban nem találtunk jelentős eltérést az aktív és inaktív szakaszban lévő betegek között.

Hodgkin lymphoma

Hodgkin lymphomás betegeknél vizsgáltuk a CD4⁺CD25^{bright} szuppresszor T-sejtek, CD4⁺IL-10⁺ Tr1 típusú sejtek valamint a CD8⁺IL-10⁺ T-sejtek abszolút számát. Kontroll csoportként egészséges személyek (negatív kontroll), illetve emlő tumoros betegek (pozitív kontroll) vérmintáit elemeztük. Mindhárom sejtcsoport jelentős mértékű emelkedést mutatott HL-ban a kontroll csoporthoz képest (CD4⁺IL-10⁺ HL betegek: medián = 0,072 G/L (alsó kvartilis = 0,055 G/L; felső kvartilis = 0,1 G/L); emlő tumoros betegek (pozitív kontroll): 0,2 G/L (0,12; 0,28); egészséges személyek (negatív kontroll): 0,008 G/L (0,001; 0,03), p < 0,001; CD4⁺CD25^{bright} HL betegek: 0,084 G/L (0,037; 0,180 G/L); emlő tumoros betegek: 0,053 G/L (0,038; 0,065); egészséges személyek: 0,034 G/L (0,024; 0,049); CD8⁺IL-10⁺ HL betegek: 0,081 G/L (0,056; 0,13); emlő tumoros betegek: 0,330 G/L (0,12; 0,550) egészséges személyek: 0,072 G/L (0,012; 0,095); p<0,001). Azonban a Hodgkin lymphomás betegek eredményeit összevetve az emlő tumoros betegekével, a CD4⁺CD25^{bright} szuppresszor T-sejtek abszolút száma a HL betegeknél szignifikánsan magasabb volt. Az emlő tumoros betegek perifériás vérében a CD4⁺IL-10⁺ és CD8⁺IL-10⁺ sejtek abszolút száma jelentősen emelkedett, szemben a HL betegekével.

A betegek eredményeit csoportosítottuk a korábban kapott kezelések (radio-, kemo-vagy kombinált terápia) és a kezelés óta eltelt idő valamint a betegség stádiuma alapján is. Eredményeink azt mutatják, hogy nincs szignifikáns eltérés a regulatív T-sejtek számában az egyes csoportok között.

Megbeszélés

Szisztémás lupus erythematosus

A regulatív T-sejtek számában vagy szuppresszor aktivitásában bekövetkező csökkenés szerepet játszhat az SLE-s B- és T-sejtek felfokozott aktivitásában. A regulatív T-sejtek közül a CD4⁺CD25⁺ szuppresszor T-sejtek szerepét vizsgálták legtöbbször szisztémás lupus erythematosusban. Az irodalmi adatok több, látszólag ellentmondó eredményt tartalmaznak a regulatív T-sejtek számának változását illetően.

Vizsgálataink eredményei összhangban vannak azokkal az irodalmi adatokkal, amelyek szerint az SLE-s betegek perifériás vérében a $CD4^+CD25^{+bright}$ T-sejtek százalékos aránya csökkent. Ilyen irányú változás mutatható ki a $CD4^+CD25^{+bright}$ T-sejtek abszolút számában is. Az emelkedés a teljes limfocitaszám változások figyelembevételével is kimutatható. Karagiannidis és mtsai asztmás betegeket vizsgálva leírták, hogy a betegek steroid kezelése fokozta a Foxp3 expressziót és megemelte a $CD4^+CD25^+$ természetes regulatív T-sejtek számát. Az aktív és inaktív stádiumban lévő betegek adatait összevetve, nem találtunk eltérést a $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek számában. Az aktív stádiumban lévő betegek napi glükokortikoid kezelése a regulatív T-sejtekre gyakorolt aktiváló hatása révén eredményezheti, hogy a $CD4^+CD25^{+bright}$ sejtek száma nem csökkent az inaktív stádiumban lévő betegekhez képest.

Szignifikáns, pozitív korrelációt találtunk a betegség aktivitási index (SLEDAI) értékek és az anti-dsDNA antitest szintje között. A két paraméter szintén pozitív korrelációt mutatott a napi glükokortikoid kezeléssel. Azonban nem volt szignifikáns mértékű korreláció a fenti paraméterek és a regulatív T-sejtek százalékos arány, illetve abszolút száma között. Fields és mtsai SLE-s B-sejtek és $CD4^+CD25^{+bright}$ regulatív T-sejtek kapcsolatát vizsgálva kimutatták, hogy a $CD4^+CD25^{+bright}$ T-sejtek képesek az anti-dsDNA termelését gátolni, ezáltal pedig, a betegség aktivitását csökkenteni. Hasonló módon, Lee és mtsai negatív korrelációt mutattak ki SLE-s gyerekek anti-dsDNA szintje és a $CD4^+$ regulatív T-sejtek aránya között.

A szuppresszor mechanizmusokban résztvevő citokinek közül kiemelkedő jelentőségű az IL-10. Az ún. indukálható $CD4^+$ regulatív (Tr1) sejtek nagy valószínűséggel ezen citokin segítségével fejtik ki - sejt-sejt kontaktus független módon - gátló hatásukat. Ismerjük, hogy az SLE-s betegek szérumában az IL-10 szint magas. Ez felveti a lehetőséget, hogy az indukálható sejtek számában, arányában esetleg eltérés mutatkozik szisztémás lupus erythematosus esetén. Munkacsoportunk korábbi eredményei, melyek összhangban vannak a jelenlegi irodalmi adatokkal, azt mutatják, hogy különösen az aktív SLE-s betegeknél nemcsak a szérum IL-10 koncentrációja, de a periférián előforduló intracitoplazmatikus IL-10 pozitív, $CD4^+$ sejtek aránya is emelkedett, habár abszolút számban nincs szignifikáns különbség az egészséges személyekhez viszonyítva.

Az eredményeink és az irodalmi adatok szerint, az SLE-s betegnél csökkent $CD4^+CD25^{+bright}$ sejttség és a Tr1 típusú sejtek arányának emelkedése figyelhető meg. Az aktív és inaktív stádiumban lévő beteg közötti kisfokú eltérések arra utalhatnak, hogy a regulatív T-sejtek száma által tükrözött immunregulációs eltérések a betegség inaktív stádiumában is jelen vannak. A regulatív T-sejtek szerepe minden bizonnyal kulcsfontosságú a betegség pathogenezisében. A regulatív T-sejtek pontos – meglehet, hogy betegségre specifikus - hatásmechanizmusának megismerése a célzottabb terápiás lehetőségek kifejlesztése szempontjából nagy jelentőséggel bír.

Súlyos SLE-s betegeknél, ha az alkalmazott terápiás módszerekkel szemben a beteg rezisztens, illetve a mellékhatások miatt a hagyományos kezelési módok nem alkalmazhatóak, a betegek plazmaferézis kezelése alternatív lehetőséget biztosít a tünetek átmeneti enyhítésére. Munkánk során megvizsgáltuk, mutatkozik-e változás a $CD4^+CD25^{+bright}$ T-sejtek számában a plazmaferetizált betegeknél.

Ismert, hogy a plazmaferézis csökkenti a keringő immunkomplexek és patológiás autoantitestek mennyiségét. Ezenkívül az immunmodulációs hatását is kimutatták, ugyanis fokozza a komplement rendszer aktivációját, a komplement receptor 1 aktivációját az erythrocytákon. Elsőként Jones és mtsai javasolták a plazmaferézist SLE-s betegek kezelésére. Véleményünk szerint, a plazmaferézis alkalmazása csak a súlyos SLE-s betegeknél indokolt, ahol veseérintettség, a központi idegrendszer érintettsége vagy antifoszfolipid-szindróma is előfordul.

Az ismételt (2-4) plazmaferezis kezelést kapott, súlyos SLE-s betegek perifériás CD4⁺CD25⁺ T-sejtjeinek abszolút száma többszörösére emelkedett a kezeléssorozat végére.

Eredményeink azt mutatják, hogy a CD4⁺CD25⁺ T-sejtek számbeli emelkedése együtt jár a betegség aktivitási index, az SLE-DAI értékének csökkenésével. A plazmaferezis ilyen irányú hatását megfigyeltük myasthenia gravis és Guillain-Barré szindrómás betegeknél is, bár az SLE-től kissé eltérő kinetikával. Liu és mtsai nem találtak korrelációt az SLE-DAI és a CD4⁺CD25⁺ T-sejtek száma között, azonban a közleményből kitűnik, hogy nem vették figyelembe a betegeknél alkalmazott kezelés módját. A glükokortikoid kezelés ugyanis megemeli a természetes regulatív T-sejtek Foxp3 expresszióját és fokozza a sejtek proliferációját. Hogy kiküszöbölhessük az alkalmazott gyógyszerek esetleges, a regulatív T-sejtekre gyakorolt hatását, vizsgálataink során nem módosítottuk a gyógyszeres terápiát a plazmaferezist megelőző napokban és a kezelés ideje alatt.

A plazmaferezis jótékony hatásának egyik tényezője lehet a kezelés hatására megemelkedő regulatív sejtszám. Ez lehet annak a következménye, hogy a plazmaferezissel az SLE-ben lymphopaeniát okozó limfocitotoxikus citokinek mennyisége jelentősen csökken, s az emelkedő limfocitaszám a regulatív sejtek proliferációját is fokozza. Természetesen a betegség aktivitásának csökkenésében még számos tényező részt vehet és vesz, de a CD4⁺CD25⁺ T-sejtek számbeli növekedése a plazmaferezis közvetett hatására hangsúlyozza a jelentőségüket a betegség pathogenezisében. Ezért, mint alternatív terápia, a súlyos SLE-s betegek esetében megfontolandó, azonban az alkalmazása során immunregulációs szempontból figyelembe kell venni, hogy a regulatív T-sejtek emelkedett száma és a fokozott szupresszor aktivitás a fertőző betegségekkel szembeni fogékonyságot növeli.

Kevert kötőszöveti betegség

Az immunválasz szabályozása során a természetes, CD4⁺CD25⁺ és az indukálható Tr1 típusú regulatív sejtek kulcsfontosságú szerepet töltenek be a patológiás, autoreaktív T-sejtek proliferációjának megakadályozásában, ezáltal az autoimmun betegségek kialakulásának megelőzésében. Az eddigi irodalmi adatok nem szolgáltatnak semmiféle információt a regulatív T-sejtek számáról, arányáról MCTD esetén. Ezért megvizsgáltuk, hogyan alakul a természetes, CD4⁺CD25⁺ és az IL-10⁺, CD4⁺ sejtek aránya és abszolút száma a kevert kötőszöveti betegségben szenvedő betegek perifériás vérében.

Mint ahogy a bevezetőben említésre került, több tanulmány jelent meg, amely a CD4⁺CD25⁺ T-sejtek csökkent százalékos arányáról számolt be olyan autoimmun rendellenességeknél, mint a rheumatoid arthritis, autoimmun diabetes vagy az SLE. Eredményeink azt mutatják, hogy kevert kötőszöveti betegségben szenvedő betegek perifériás vérében a CD4⁺CD25⁺ sejtek abszolút száma és százalékos értéke csökkent az egészséges (kontroll) személyekhez képest. Még nagyobb mértékű csökkenés volt kimutatható az aktív stádiumban lévő betegnél. Az IL-10 termelő CD4⁺ sejtek számában emelkedést mutattunk ki a periférián. Az aktív stádiumban lévő betegnél ez az emelkedés tovább fokozódott. Tehát a két sejtféleség számbeli változása ellentétes tendenciát mutat. A sejtek által kifejtett szupresszor mechanizmus molekuláris részletei még nem ismertek teljesen. Az eddigi eredmények alapján két citokin szerepét kell ki emelnünk. Az MCTD-s betegek szérumában kimutatható emelkedett IL-6 és IL-10 szint részben magyarázhatja a regulatív T-sejtek eme két csoportjának eltérő viselkedését. Tüdő-tumoros betegeknél a tumor környezetében nagy számú CD4⁺CD25⁺ T-sejtet találtak. Kimutatták, hogy a tüdőből származó CD4⁺CD25⁺ sejtekre az IL-6 és a szolúbilis IL-6 receptor egyaránt gátló hatást fejt ki, csökkentve a

természetes $CD4^+CD25^{bright}$ regulatív T-sejtek funkcióját és proliferációját. A Tr1 sejtek hatásukat IL-10 révén fejtik ki. Az így megvalósuló szuppresszor mechanizmusban a sejt-sejt kontaktusnak csak csekély szerepe van, de a maximális szuppresszió eléréséhez ez is szükséges. A Tr1 sejtek proliferációja IL-10 és IFN- α jelenlétét igényli, így az MCTD-s betegek emelkedett IL-10 szintje hozzájárulhat a Tr1 sejtek fokozott jelenlétéhez. Úgy tűnik, - a betegségek pathomechanizmusának pontos feltérképezéséhez - a regulatív sejtek szerepének vizsgálata magába kell foglalja az egyes alcsoportjaik közötti interakciók vizsgálatát is.

Hodgkin lymphoma

Regulatív T-sejtek ($CD4^+CD25^{bright}$, $CD4^+IL-10^+$, $CD8^+IL-10^+$) előfordulását vizsgáltuk hosszú ideje komplett remisszióban lévő Hodgkin lymphomás betegek perifériás vérében.

A korábbi eredmények a $CD4^+CD25^{bright}$ és $CD4^+IL-10^+$ sejtek emelkedett arányáról számolnak be a HL betegek nyirokcsomóiban. Gastrointestinális malignus megbetegedések esetén a $CD4^+CD25^+$ sejtek száma szintén emelkedett. A krónikus limfoid leukémiában szenvedő betegeknél a fludarabine terápia csökkentette a $CD4^+CD25^+$ sejtek fokozott aktivitását.

Az általunk vizsgált sejtcsoportok mindegyike emelkedett számban fordult elő a betegek perifériás vérében összehasonlítva az egészséges személyekkel. A betegek adatainak csoportosítása azt mutatta, hogy a regulatív T-sejtek számának emelkedés független a kapott terápia típusától (kemo-, radio- vagy kombinált terápia) és a kezelés óta eltelt időtől.

Véleményünk szerint a $CD4^+CD25^{bright}$ T-sejtek számának emelkedése a HL lymphoma sajátosságának tekinthető, minthogy az emlő tumoros betegek estében a $CD4^+CD25^{bright}$ sejtek száma bár emelkedett, de alacsonyabb mértékben, mint a HL betegeknél. A másik két sejtcsoport ($CD4^+IL-10^+$ és $CD8^+IL-10^+$) száma szignifikánsan magasabb volt az emlő tumoros betegek vérében.

A vizsgálatok során mi is igazoltuk a korábban már leírt csökkent CD4/CD8 arányt, az emelkedett aktivált T-sejt számot ($CD3^+CD69^+$ és $CD3^+HLA-DR^+$). Meg kell említeni, hogy nem találtunk eltérést az EBV pozitivitás és a $CD4^+CD25^{bright}$ sejtek száma, illetve a szérum IL-10 szint és a regulatív T-sejtek száma között.

A $CD4^+CD25^{bright}$ T-sejtek számának emelkedése az immunreguláció betegség-specifikus elváltozására utal. Azonban további vizsgálatok szükségesek annak a megválaszolására, hogy a.) a $CD4^+CD25^{bright}$ sejttség emelkedése valamiféle hajlamosító tényező-e betegségre, vagy b.) már a betegség manifesztálódásának következménye?

Összefoglalás, új eredmények

Vizsgálataink egy részének eredménye megerősíti azokat az irodalmi adatokat, amelyek a perifériás $CD4^+CD25^{bright}$ regulatív T-sejtek csökkent arányáról számolnak be szisztémás lupus erythematosusban. Igazoltuk, hogy ez a tendencia az abszolút sejtszámokra is igaz. Kimutattuk, hogy szemben a $CD4^+CD25^{bright}$ sejtekkel a $CD4^+IL-10^+$ sejtek aránya kissé emelkedett a periférián, ez az emelkedés azonban az abszolút sejtszámra nem áll fenn.

Elsőként sikerült leírunk, hogy a $CD4^+CD25^{bright}$ természetes regulatív T-sejtek aránya és abszolút száma csökkent a kevert kötőszöveti betegséggel érintett betegek perifériás vérében. A betegség aktív stádiumában a csökkenés mértéke még kifejezettebb. Ezzel szemben, az indukálható regulatív T-sejtek száma éppen ellentétes irányban változott. A sejtek százalékos aránya szignifikáns mértékű emelkedést mutatott, az abszolút számokban azonban nem találtunk eltérést sem a kontroll csoporthoz viszonyítva, sem az aktív és inaktív stádiumban lévő betegek között.

A komplett remisszióban lévő Hodgkin lymphomás betegek regulatív T-sejtjeinek vizsgálata során megállapítottuk, hogy a természetes és indukálható regulatív T-sejtek aránya és abszolút száma egyaránt emelkedett a betegek perifériás vérében. „Pozitív” kontroll csoportként emlő tumoros betegeket vizsgálva megállapítottuk, hogy a $CD4^+CD25^{bright}$ szuppresszor T-sejtek emelkedése a Hodgkin lymphoma egyik jellemző sajátja. A $CD4^+IL-10^+$ és $CD8^+IL-10^+$ sejtek emelkedése mindkét betegcsoportban szignifikáns mértékű volt, de a Hodgkin lymphomás betegeknél a $CD4^+CD25^{bright}$ T-sejtek emelkedett száma kifejezettebb volt, mint az emlő tumoros betegeknél. A betegek csoportosítása a kezelés óta eltelt idő, valamint a korábban kapott terápia típusa szerint, azt mutatta, hogy a regulatív T-sejtek számának változása független a fent említett paraméterektől.

A fenti regulatív sejtcsoportok vizsgálata a betegség aktivitásának, a várható, esetleges aktiválódásnak megítélésére, illetve előrejelzésére, továbbá a kezelés hatékonyságának mérésére hasznos útmutatást jelenthet.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

1. **Baráth S**, Aleksza M, Keresztes K, Tóth J, Sipka S, Szegedi Gy, Illés Á. Immunoregulatory T cells in peripheral blood of patients with Hodgkin's lymphoma. *Acta Haem.* 2006; 116: (DOI:10.1159/000094678) **IF: 1,229**
2. **Baráth S**, Sipka S, Szodoray P, Szegedi A, Aleksza M, Végh J, Szegedi Gy, Bodolay E. Circulating regulatory T cells in patients with mixed connective tissue disease (MCTD). *Scand. J. Rheum.* 2006; 35:300-304. **IF: 1,687**
3. **Baráth Sándor**, Aleksza Magdolna, Szegedi Andrea, Sipka Sándor, Szegedi Gyula, Bodolay Edit. Regulatórikus T-sejtek kevert kötőszöveti betegségben. *Magyar Imm.* 2005;3-4:25-32
4. **Baráth S**, Aleksza M, Tarr T, Sipka S, Szegedi Gy, Kiss E. Measurement of natural (CD4⁺CD25^{high}) and inducible (CD4⁺IL-10⁺) regulatory T-cells in patients with systemic lupus erythematosus. Beküldve: *Lupus*
5. **Baráth S**, Soltész P, Kiss E, Aleksza M, Zeher M, Szegedi Gy, Sipka S. The activity of systemic lupus erythematosus negatively correlates with the increasing number of CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells during repeated plasmapheresis treatment of patients. Beküldve: *Autoimmunity*

Egyéb közlemények:

6. Sipka S Jr, Brath E, Toth FF, Aleksza M, Kulcsar A, Fabian A, **Barath S**, Balogh P, Sipka S, Furka I, Miko I. Cellular and serological changes in the peripheral blood of splenectomized and spleen autotransplanted mice. *Transpl Immunol.* 2006;16:99-104. **IF: 2,134**
7. Sipka S Jr, Brath E, F Toth F, Fabian A, Krizsan C, **Barath S**, Sipka S, Nemeth N, Balint A, Furka I, Miko I. Distribution of peripheral blood cells in mice after splenectomy or autotransplantation. *Microsurgery.* 2006;26(1):43-9. **IF: 0,757**
8. Zsilak S, Gal J, Hodinka L, Rajczy K, Balog A, Sipka S, **Barath S**, Kapitany A, Zilahi E, Szekanez Z. HLA-DR genotypes in familial rheumatoid arthritis: increased frequency of protective and neutral alleles in a multicase family. *J Rheumatol.* 2005 Dec;32(12):2299-302. **IF: 3,010**
9. Acs G, Furka I, Miko I, Szendroi T, Hajdu Z, Sipka S Jr, **Barath S**, Aleksza M, Csipo I, Balo E, Balint A, Fekete K. Comparative hematologic and immunologic studies of patients with splenectomy and spleen autotransplantation. *Magy Seb.* 2005 Apr;58(2):74-9. Hungarian.
10. Aleksza M, Keresztes K, **Baráth S**, Sipka S, Illés Á. Immunológiai eltérések hosszan túlélő Hodgkin-kóros betegeken. *Magyar Imm.* 2005; 4(1):19-25.
11. Keresztes K, Aleksza M, **Baráth S**, Miltényi Zs, Váróczy L, Gergely L, Sipka S, Illés Á. Helicobacter pylori-fertőzés Hodgkin kóros betegeken. *Hemat Transzf* 2004; 37:265-271.

Összesített impakt faktor: 8,817

Előadások és poszterek:

1. **Baráth S**, Sipka S, Szodoray P, Szegedi A, Aleksza M, Végh J, Szegedi G, Bodolay E. Changes in the absolute number of regulatory T cells in patients with mixed connective tissue disease. *1st Joint Meeting of European National Societies of Immunology, 16th European Congress of Immunology, Paris, 2006*
2. Csípő I, Kiss E, **Baráth S**, Bakó É, Zeher M, Sipka S, Szegedi G, Kávai M. Determination of immune complex bound soluble complement receptor 1, Fc receptor II and III in sera of patient with systemic lupus erythematosus. *1st Joint Meeting of European National Societies of Immunology, 16th European Congress of Immunology, Paris, 2006*
3. Griger Z, Bíró T, Kiss E, **Baráth S**, Zeher M, Szegedi G, Sipka S. Corticosteroid dependent PKC isoform abnormalities both at mRNA and protein level in the mononuclear cells of patient with SLE. *1st Joint Meeting of European National Societies of Immunology, 16th European Congress of Immunology, Paris, 2006*
4. Sipka S, Griger Z, Bíró T, Aleksza M, Kiss E, Kovács I, **Baráth S**, Bodolay E, Zeher M, Szegedi G. The central role of PKC delta in the impaired production of arachidonic acid in the monocytes of SLE patients. *1st Joint Meeting of European National Societies of Immunology, 16th European Congress of Immunology, Paris, 2006*
5. **Baráth S**, Sipka S, Gál M, Hunyadi J, Szegedi A. Emelkedett regulatív sejtszám atopiás dermatitiszben szenvedő betegek perifériás vérében. *Magyar Allergológiai és Klinikai Immunológiai Társaság Vándorgyűlés, Gyula, 2006*
6. **Baráth S**, Soltész P, Kiss E, Aleksza M, Zeher M, Szegedi Gy, Sipka S. Elevation in the number of CD4⁺CD25^{high} T cells by plasmapheresis in the peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus. *World Allergy Congress, Munich, 2005 (poszter)*
7. **Baráth S**, Sipka S, Szegedi A, Aleksza M, Zeher M, Szegedi Gy, Bodolay E. Regulatórikus sejtek kevert kötőszöveti betegségben *Magyar Rheumatológusok Egyesülete Vánadorgyűlés, Sopron, 2005 (előadás)*
8. **Baráth S**. Immunszuppresszív regulációs T-sejtek és különböző citokinek vizsgálata Hodgkin lymphomás betegeken. *PhD konferencia, Debrecen, 2005 (előadás)*
9. Csípő I, Kiss E, **Baráth S**, Bakó É, Zeher M, Sipka S, Szegedi M, Kávai M. Soluble complement receptor 1 and soluble Fc receptors bind to circulating immune complexes in systemic lupus erythematosus. *2nd Danubian Symposium on Laboratory Medicine, Arad, Romania, 2005 (előadás)*
10. Csípő I, **Baráth S**, Kiss E, Bodolay E, Dankó K, Szekanecz Z, Soltész P, Zeher M, Szegedi Gy, Sipka S. Anti-oxidized LDL and CRP measurement in polysystemic autoimmune and vascular diseases. *International Semmelweis Symposium, Budapest, 2005 (poszter)*
11. **Baráth S**. Perifériás CD4⁺CD25^{high} szuppresszor T-sejtek arányának növekedése plazmaferézis hatására szisztémás lupus erythematosusban (SLE) szenvedő betegeken. *PhD konferencia, Debrecen, 2004. (előadás)*
12. Csipo I, Kiss E, **Barath S**, Bako E, Zeher M, Sipka S, Szegedi Gy, Kawai M. Correlation between levels of anti-C1q antibodies and sCR1 bound circulating immune complexes in systemic lupus erythematosus. *12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of FOCIS, Montreal, Canada, 2004 (poszter)*
13. Csípő I, Kiss E, **Baráth S**, Bakó É, Zeher M, ifj. Sipka S, Szegedi Gy, Kávai M. Az anti-C1q antitest és a szolubilis komplementreceptor 1-hez kötött, keringő

- immunkomplexek emelkedett szintje SLE-ben. *Magyar Immunológiai Társaság XXXIV. Vándorgyűlése, Szeged, 2004 (előadás)*
14. Csípő I, Kiss E, **Baráth S**, Sipka S, Szegedi Gy. A mannozktő lektinek vizsgálata szisztémás lupus erythematosusban szenvedő betegek szérumában *Magyar Immunológiai Társaság XXXIV. Vándorgyűlése, Győr, 2003 (előadás)*