

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

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.

TARTALOMJEGYZÉK

I. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
II. BEVEZETÉS, IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
II.1. Az MCTD patogenezise	7
II.2. Genetikai háttér.....	10
II.3. Demográfiai adatok	11
II.4. Az MCTD klinikai jellemzői	11
II.5. Vasculopathia MCTD-ben.....	16
II.6. Autoantitestek MCTD-ben	17
II.7. Az MCTD klasszifikációja	18
II.8. Mortalitás	19
III. CÉLKITŰZÉSEK	21
IV. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK	22
IV.1. Betegek.....	22
IV.2. Laboratóriumi mérések	24
IV.3. Otolaryngológiai vizsgálatok	28
IV.4. Statisztika	29
V. EREDMÉNYEK	30
V.1. A 280 MCTD-S BETEG HOSSZÚ TÁVÚ KÖVETÉSE.....	30
V.1.1. MCTD-ben észlelt szervi érintettség a kórlefolyás során.....	30
V.1.2. Autoantitestek MCTD-s betegek szérumában	36
V.1.3. Halálokok MCTD-ben.....	37
V.1.4. Klinikai tünetek hatása az MCTD-s betegek túlélésére	39
V.1.5. Terápia MCTD-ben	42
V.2. FENOTÍPUSOK VIZSGÁLATA MCTD-BEN	44
V.3. IMMUNMEDIÁLTA HALLÁSCSÖKKENÉS MCTD-BEN.....	49
V.4. D-VITAMIN HIÁNY ÉS CARDIOVASCULARIS RIZIKÓFAKTOROK	56
V.5. B-SEJT ABNORMALITÁSOK MCTD-BEN	62
VI. MEGBESZÉLÉS	71
VI.1. Az MCTD-s betegek hosszú távú követése	72
VI.2. Fenotípus jellemzők MCTD-ben	76
VI.3. Halláscsökkenés	78
VI.4. D-vitamin és cardiovascularis betegség.....	80
VI.5. B-sejt alcsoportok	83
VII. ÚJ MEGÁLLÍTÁSOK.....	87
VIII. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS TÁRGYSZAVAK	89

IX. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	91
X. IRODALOMJEGYZÉK.....	92
XI KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	112
XII. PUBLIKÁCIÓK KÜLÖNLENYOMATAI.....	115

I. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AECA	anti-endothelsejt antitest
ANA	anti-nukleáris antitest
ANCA	anti-neutrophil citoplazmatikus antitest
ApoA1	apolipoprotein A1
ApoB	apolipoprotein B
APS	antifoszfolipid szindróma
anti-SSA	Sjögren szindrómával összefüggő A antigén elleni antitest
anti-SSB	Sjögren szindrómával összefüggő B antigén elleni antitest
CRP	C-reaktív protein
CCP	ciklikus citrullinált peptid
CL	cardiolipin
CYC	cyclophosphamid
DC	dendritikus sejt
DLCO	szénmonoxid diffúziós kapacitás
DM	dermatomyositis
DNS	dezoxiribonukleinsav
EMG	electromyographia
ENA	extrahálható nukleáris antigén
ENG	electroneurographia
ET-1	endothelin-1
GN	glomerulonephritis
HDL	high density lipoprotein
HLA	humán leukocyta antigén
HRCT	high resolution computed tomography
Ig	immunglobulin
ILB	interstitialis légzőszervi betegség
IFN- γ	interferon-gamma
IVIG	intravénás immunglobulin
KS	kortikoszteroid
LDL	low density lipoprotein
MCTD	mixed connective tissue disease – kevert kötőszöveti betegség
MTX	methotrexát

NDC	nem-differenciált collagenosis
PAH	pulmonalis artériás hipertenzió
PBS	foszfát pufferes sóoldat (phosphate buffered saline)
PM	polymyositis
RA	rheumatoid arthritis
RF	rheumatoid faktor
RNS	ribonukleinsav
RNP	ribonukleoprotein
SSc	szisztémás sclerosis
SLAM	szisztémás lupus erythematosus activity measure
SLE	szisztémás lupus erythematosus
Sm	Smith antigén
SNHCS	sensorineuralis halláscsökkenés
Th-sejt	helper T-sejt
TLR	Toll-like receptor
TM	thrombomodulin
TNF- α	tumor nekrosis faktor- α
Treg	regulatórikus T-sejt
TTP	thrombotikus thrombocytopeniás purpura
vWFAg	von Willebrand faktor antigén

II. BEVEZETÉS, IRODALMI ÁTTEKINTÉS

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

1962 és 1969 között a Stanford Egyetem munkacsoportja Gordon Sharp irányításával borjú thymus kivonatból azonosítottak egy nukleáris antigént, ami ellen a betegek egy csoportjában autoantitestet mutattak ki komplement fixációs módszerrel. Az autoantitestet hordozó betegek klinikailag a szisztémás lupus erythematosus (SLE), a szisztémás sclerosis (SSc), a rheumatoid arthritis (RA) és a polymyositis/dermatomyositis (PM/DM) egy-egy sajátos tünetét hordozták. A definitív poliszisztémás autoimmun kórképben előforduló több tünet együttes jelenléte miatt kevert kötőszöveti betegségnek (mixed connective tissue disease – MCTD) nevezték el [1].

Sharp első 25 MCTD-s betegében a trigeminus neuralgia, Raynaud jelenség, polyarthrititis, myositis, változatos megjelenésű bőrtünetek (fotoszenzitivitás, erythema, sclerodactylia, teleangiectasia), nyelőcső motilitási zavar, nyirokcsomó-, májlépnagyobbodás, láz, anaemia volt a leggyakoribb szervi érintettség. A tünetek rendkívül jól és gyorsan reagáltak kortikoszteroid (KS) kezelésre.

A nukleáris antigén további analízise során kiderült, hogy azonos a Holman által már leírt extrahálható nukleáris antigénnel (ENA) [1]. Az érintett betegek szérumában az ellenanyag tartósan és rendkívül magas titerben (1:1.000-1:1.000.000) volt jelen, míg anti-DNS antitestet csak néhány beteg széruma tartalmazott. A szérumok ribonukleáz kezelésével az anti-ENA ellenanyagtiter csökkent vagy teljesen megszűnt, így egyértelművé vált, hogy az autoantitest specifikus a nukleáris ribonukleoproteinre (RNP). Ezzel párhuzamosan Tan és munkacsoportja az MCTD-s betegek szérumában immunfluoreszcens módszerrel olyan antitestet talált, ami patkány máj szubsztrátumon foltos mintázatot mutatott [2].

Sharp és mtsai úgy vélték, hogy a fenti tünettársulást hordozó betegcsoport az anti-RNP autoantitest pozitivitás mellett önálló kórképet képvisel.

Az 1980-as évek közepéig azonban 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 SLE-be vagy SSc-be progrediálhat [3,4]. Az 1980-as években az MCTD-t az SLE, mások a SSc enyhe lefolyású alcsoportjának tartották. Sokan a nem differenciált collagenosissal (NDC), mások az overlap szindrómával azonos fogalomként használták az MCTD-t [5]. A jelenlegi álláspont szerint az overlap szindróma két vagy több autoimmun betegségre jellemző klinikai tünet és/vagy szerológiai eltérés együttes megjelenése egy betegben. Az NDC, vagy ahogy a nemzetközi irodalomban használják UCTD (undifferentiated connective tissue disease) olyan kórállapot, amikor autoimmun betegséggel kapcsolatos kritériumtünetek és immunszerológiai eltérések vannak jelen, de ezek nem érik el azt a meghatározott kritériumszintet, ami alapján konkrét, elkülönült poliszisztémás autoimmun kórkép diagnózisát ki lehetne mondani [6-8].

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 sajátosságok alapján ma már az MCTD-t önálló szisztémás autoimmun kórképként tartják számon [9-12].

II.1. Az MCTD patogenezeise

Az MCTD diagnosztikájában mérföldkövet jelentettek azok a kutatások, melyek közelebb vittek az autoantigén megismeréséhez és biokémiai analíziséhez.

Lerner és Steitz munkája alapján vált ismertté, hogy az ENA két komponense, az RNP és a Smith antigén (Sm) a sejtmagban makromolekuláris komplexet képeznek [13].

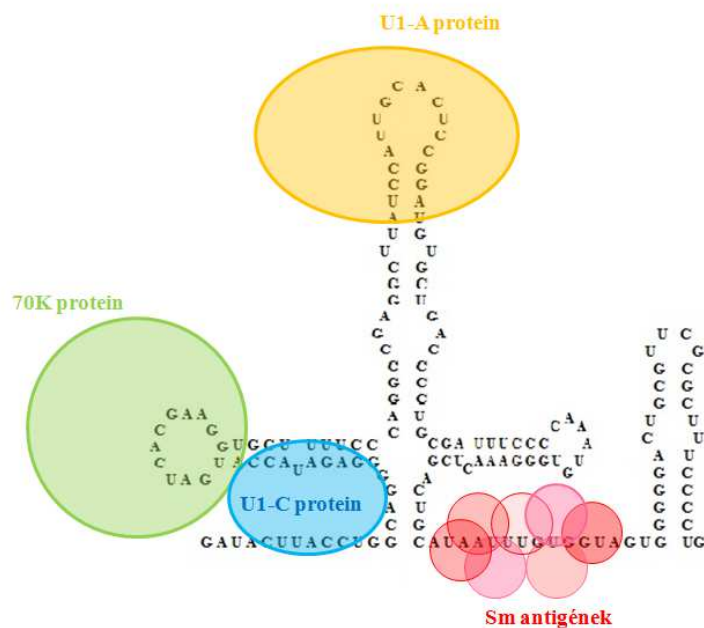
Az uridinben gazdag small nuclear RNP-k (U-snRNP) a spliceosoma részei, melyek az elsődleges transzkriptum érési folyamatában játszanak szerepet. Az 5 sn-RNP közül (U1, U2, U4, U5 és U6) az U1-RNP képezi a spliceosoma egyik fő komponensét [14].

Mindegyik snRNP-t egy snRNS molekula, specifikus proteinek és 7 Smith protein alkotja (Sm-B/Sm-B', Sm-D1, Sm-D2, Sm-D3, Sm-E, Sm-F és Sm-G). Az U1-RNP-t az U1-snRNS, az Sm proteinek, és 3 U1-specifikus fehérje, az U1-70K, U1-A és U1-C proteinek alkotják.

1986-ban Pettersson és munkatársai bizonyították, hogy az anti-U1-RNP antitest három proteinnel, az snRNP 70 kD tömegű fehérjével (U1-70K), a 33 kD tömegű U1-A és a 22 kD tömegű U1-C proteinnel reagál. A legfőbb antigén determinánst az U1-70K fehérje hordozza, és az MCTD-s betegek szérumában kimutatható anti-U1-RNP autoantitest döntően az U1-

70K protein ellen termelődik [15]. Kisebb gyakorisággal az A és a C peptid ellen képződött autoantitestek is jelen vannak MCTD-ben.

1. ábra: Az U1-RNS másodlagos struktúrája (fekete), valamint a 7 Sm antigén, U1-70K, U1-A és U1-C proteinek lokalizációja



Az Sm komplex közül a 28-29 kD B'/B peptid, valamint a 16 kD-os D peptidek (D1, D2, D3) hordoznak olyan antigén determinánst, ami ellen autoantitestek képződnek. Az Sm antigén ellen termelődött autoantitest (anti-Sm) az SLE-re jellemző, és rendkívül ritkán mutatható ki az MCTD-s betegek szérumában [15-17].

Az 1980-as évek második felében több munkacsoport észlelte, hogy az anti-U1-RNP pozitivitás szorosan összefügg a HLA-DR4 és a HLA-DRw53 genotípussal [18-20]. Egymástól független vizsgálatok bizonyították a HLA-DR4 haplotípus és az anti-U1-RNP ellenanyagválasz közti összefüggést az Egyesült Államokban, Németországban, Japánban és Finnországban. Nem találtak különbséget a rasszok és etnikumok között [20-24].

Az U1-70K autoantitest klinikai jelentőségét tovább növelte az a tény, hogy az autoantitest jelenlétében lényegesen ritkábban fordult elő nephritis, mint az anti-DNS pozitív SLE-s betegekben, ugyanakkor megnőtt a pulmonalis hipertenzió és a proliferatív vascularis laesio veszélye [25].

1993-ban Okubo és mtsai kimutatták, hogy az MCTD-s betegek T-sejtjei felismerik az U1-RNP A peptid 201-241 régióját, valamint a C terminális 242-282 szekvenciáját [26]. Holyst és munkacsoportja 1997-ban bizonyította, hogy MCTD-s betegekben az U1-70K proteinnel reaktív T-sejtek helper fenotípust hordoznak, és az általuk termelt citokinek a B-sejtek differenciálódását segítik elő. Az U1-70K T-sejtklónok TCR-je szükséges az antigén specifikus immunválaszhoz [27].

Az elmúlt évtized immunológiai kutatásai egyértelműen bizonyították, hogy az MCTD patogenezisében alapvető szerepe van az autoantigén modifikációnak. 1994-ben Casciola-Rosen megfigyelte, hogy az U1-70K protein az apoptózis során hasítódik, és az antigén apoptótikusan módosult formája autoimmun folyamatok elindítója lehet [28].

2002-ben Greidinger és Hoffman adatai bizonyították, hogy az U1-70K protein apoptótikus fragmentje ellen termelődő antitestek különböznek az intakt U1-70K ellen termelődő ellenanyagoktól [29]. Az U1-70K eredendően immunogén, és anti-snRNP termelést indít el [30]. Az U1-70K oxidatív módon és apoptótikusan hasított formája egyaránt provokálhat antitest termelődést. A fotoszenzitív bőrtüneteket mutató MCTD-s betegek széruma felismeri az U1-RNP 40 kD tömegű apoptótikus fragmentjét, míg a Raynaud tünettel bíró betegek széruma az U1-RNP 33 és 38 kD közötti oxidatív fragmentjével reagál. Feltevésük, hogy az U1-RNP antigén módosulásával új immunogén epitópok képződnek, és a módosult antigének elleni immunválasz eltérő klinikai tüneteket eredményez.

A jelenlegi megfigyelések szerint az autoreaktív B-sejtek ellenanyagtermelődése a 70 kD peptidfragmentumai ellen kezdődik, majd epitóp terjedés révén terjed a teljes 70 kD molekulára. Az epitóp terjedés történhet egyetlen antigénen belül, ugyanazon protein számos epitópjára (intramolekuláris terjedés). Egy polipeptid elleni reaktivitás egy nagyobb makromolekuláris komplex más polipeptidjeire vagy fehérjeire is kiterjedhet (intermolekuláris epitóp terjedés). Az anti-U1-RNP válaszban mindkét formát megfigyelték [31,32].

2004-ben Greidinger és Hoffman munkacsoportja azonosított egy fő B-sejt epitópot, ami az U1-70K protein apoptótikus fragmentjén prezentálódik, de nincs jelen az intakt U1-70K-n. Az epitópot tartalmazó peptid fragmentummal HLA-DR4-transzgén egereket immunizáltak, és epitóp terjedés révén az egerekben a 70K endogén forma ellen is immunitás alakult ki, a tüdőkben pedig proliferatív vascularis elváltozások mutatkoztak [33].

A szisztémás autoimmun kórképek, így az MCTD kialakulásában is mind a veleszületett (innate), mind az adaptív immunitás szerepe kiemelkedő. MCTD-ben a T- és a B-sejtek szekvenciáját, epitóp térképezését vizsgáló tanulmányok alapján arra a megfigyelésre jutottak,

hogy domináns epitópok vannak az U1-70K peptid RNS-t kötő doménjében. Az antigénprezentáló dendritikus sejtek (DC) patogén felismerő receptorai (patogén association recognition receptors- PARP) felismerik a kettős szálú RNS-t (TLR3) vagy az egyszálú RNS-t (TLR 7,8). Az autoreaktív B-sejtek és a DC sejtek aktiválódása ellenanyagtermeléshez vezet. Az aktivált DC sejtek az U1-70K peptidet, illetve a peptid fragmenteket prezentálják a CD4+ T-sejteknek, ami beindítja az autoantitestek termelődését [34].

1. táblázat: Az MCTD patogenezisében szerepet játszó folyamatok

Az MCTD patogenezisében szerepet játszó folyamatok	
Autoantigén modifikáció	- apoptotikus és oxidatív modifikáció - poszttranszlációs modifikáció (glikolizáció, foszforiláció)
Veleszületett immunitás	- RNS szignalizáció TLR 3, 7 és 8-n keresztül - Limfociták, dendritikus sejtek és egyéb antigénprezentáló sejtek aktivációja TLR-n keresztül
B-limfociták	- autoantitest termelés - antigénprezentáció - immunológiai memória biztosítása - citokin termelés - Th1/Th2 egyensúly befolyásolása - nyirokszövet szerkezeti átrendezésében szerepet játszanak - dendritikus sejtek funkciójának befolyásolása - regulatív funkció (regulatív B-sejtek)
T-limfociták	- T- és B-sejtek, makrofágok effektor funkcióinak serkentése - citokinek termelése - szövetkárosítás, célsejt elpusztítása - reguláció (regulatív T-sejt)

II.2. Genetikai háttér

Az autoimmun kórképek multifaktoriális etiológiájúak. Genetikai predispozíció szerepet játszhat kialakulásukban. Kimutatták, hogy autoimmun betegségek nagyobb gyakorisággal társulnak egyes humán leukocyta antigén (HLA) allélekhez. Genetikai vizsgálatok igazolták, hogy MCTD-s betegek az átlag populációhoz képest gyakrabban hordozzák a HLA II. osztályba tartozó molekulák közül a HLA-DR4 allélt [21,24,35-38]. Ezzel ellentétben, az SLE leginkább a HLA-DR2 és -DR3 alléllal [38,39], a polymyositis a HLA-DR3 alléllal [40,41], míg a szisztémás sclerosis a HLA-DR3, -DR5 és -DQB1 alléllal mutat szoros asszociációt [42].

A fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) régiója számos gént tartalmaz, amik autoimmun kórképekkel kapcsolatban lehetnek. Ilyen a TNFA gén, melynek polimorfizmusa

befolyásolhatja a tumor nekrózis faktor- α (TNF- α) citokin produkciót. Az MHC I. osztály régiójában a TNFA és a HLA-B gének között helyezkedik el a MICA gén, mely magas polimorfizmust mutat. Hassan és munkacsoportja kimutatták, hogy a MICA 5.1-5.1 genotípus szorosan asszociált MCTD-vel, továbbá a shared epitóp gének (DRB1*01 és DRB1*04) szintén szignifikáns társulást mutatnak MCTD-hez. MICA 4 allél haplotípus a DRB1*04 és TNF1 allélekkel együtt mutatta a legspecifikusabb kapcsolatot MCTD-vel [35].

A genetikai vizsgálatok alapján az MCTD sajátos genetikai háttérrel rendelkezik, mely eltér a többi szisztémás autoimmun betegségtől.

II.3. Demográfiai adatok

A betegség leggyakrabban fiatal felnőttkorban, illetve középkorban kezdődik, betegség kezdete 28-37 év közé tehető. Gyerekkorban kezdődő esetek is ismertek. MCTD-ben kifejezett a női nem predominanciája, a betegek 85 %-a nő [1,9,43].

Az MCTD a ritka szisztémás autoimmun kórképek közé tartozik. Prevalenciája országok között eltérő. Norvégiában 2008-ban végzett nemzeti felmérés alapján az MCTD prevalenciája 3,8/100,000 felnőtt főre. Incidenciája 1996 és 2005 között 2,1/millió fő/év. Első tünet észlelésekor a betegek átlagéletkora 31,5 év volt, míg a diagnózis felállításakor 35,1 év [44].

II.4. Az MCTD klinikai jellemzői

Ízületi eltérések leggyakrabban szimmetrikus kéz kisízületi fájdalom, duzzanat formájában jelentkeznek, reggeli ízületi merevséggel [45]. Polyarthralgia és súlyos arthritis korai és gyakori manifesztációja az MCTD-nek, a legtöbb betegben megjelenik, általában a kéz és láb kisízületeit érinti. Rheumatoid faktor (RF) pozitívitas az arthritises betegek 50 %-ában észlelhető [46]. A betegek hosszú távú követéses vizsgálatai igazolták, hogy a kórlefolyás során az MCTD-s betegek 30%-ában erozív arthritis alakulhat ki. Eróziók leggyakrabban a csukló, az interphalangealis valamint a metacarpo-phalangealis ízületeket, ritkábban a láb kisízületeit érintik [47,48].

Izomérintettség a betegek 80-90%-ában alakul ki a kórlefolyás során. MCTD-ben észlelt myositis klinikai megjelenése a többi inflammatórikus myopathiához hasonló.

Általában akutan, gyakran lázzal jelentkeznek, néha lappangva kezdődik. Fő panasz a generalizált izomgyengeség. MCTD-ben a myositis leginkább a proximalis izmokat érinti, és a medenceöv izmainak érintettsége gyakoribb, mint a vállövé [49,50]. A szérum kreatin-kináz és aldoláz emelkedés általában nem ér el olyan mértéket, mint polymyositisben. Electromyographia (EMG) típusos inflammatorikus myopathiát igazol. Az MCTD-ben észlelt myositis enyhébb lefolyású, és jobban reagál terápiára, mint a polymyositis vagy dermatomyositis [51].

Lundberg és munkatársai 29 myositises beteg összehasonlításakor azt találták, hogy az MCTD-ben észlelt szövettani eltérések inkább hasonlítanak a dermatomyositisben észleltekhöz, mint a polymyositishez. A limfocita infiltráció leginkább perimysialis eloszlást mutatott [52].

Vianna immunhisztológiai módszereket alkalmazva azt találta, hogy MCTD-ben a myositis egyedi, humorális folyamatok által mediált, és elsősorban az intramuscularis artériák és kapillárisok érintettek a kórfolyamatban [53].

Bőrtünetek igen gyakoriak és változatosak, már az MCTD korai szakában megjelennek [9,54]. Sharp 1972-ben már több típusú bőrtünetet megfigyelt az MCTD-s betegeken: fényérzékenység, arcon, nyakon fényhatásra provokálódó erythema, sclerodactylia, teleangiectasia, Raynaud jelenség [1].

Sclerodactylia kialakulása gyakori, ilyenkor az ujjak és alkar bőre feszessé, vastaggá válik, a bőr nehezen emelhető lesz. A sclerodactylia általában kezdeti tünete az MCTD-nek. Az SSc-re jellemző, megvastagodott bőr által okozott flexiós kontraktúra kialakulása több éves betegség fennállás esetén sem jellemző MCTD-re.

A **Raynaud jelenség** a betegek 75-90%-ában észlelhető, sokszor évekkel megelőzi a többi tünet kialakulását. Szimmetrikus, többnyire a kéz ujjait érinti, de jelentkezhet a lábujjakon is [55]. A kezdetben hideg vagy stressz hatására provokálódó vasospasmusok idővel állandósulnak, az ujjak tartósan lividdé és fájdalmassá válnak. Kapillármikroszkópia egyértelműen bizonyítja, hogy a Raynaud jelenség hátterében nem csupán vasospasmus áll, hanem az ujjak kapillárisainak endothelsejt károsodása, ami a kapillárisok töredezettségével jár. MCTD-re az óriáskapillárisok, és az ún. bokrosodási tünetet mutató „bushy” kapillárisok karakterisztikusak [56].

Sclerodermában jellegzetes kapillármikroszkópos eltérések alakulnak ki. Az ún. scleroderma kapillárismintázatban csökkent kapillárisűrűség mellett tágult hurkok, óriáskapillárisok és bevérzett területek láthatók. A scleroderma kapillárismintázat megjelenhet más szisztémás

autoimmun kórképekben is, így SLE-s betegek 13 %-ában, az MCTD-s betegek 60 %-ában. [57,58]. A kapillárisok pusztulása MCTD-ben gyakoribb, mint SLE-ben [58]. Az SSc-vel ellentétben azonban MCTD-ben fekély, gangréna kialakulása ritka.

Kézhátduzzanat a betegek kétharmadában jelentkezik, a bőr a csuklótól az ujjak végéig duzzadt, puffadt, az ujjak kolbászujjszerűek. Körömágyak mellett dilatált kapillárisok, perivascularisan oedema mutatható ki.

Generalizált calcinosistról is beszámoltak MCTD-ben [59].

A **pulmonalis érintettség** két, az MCTD-s betegek életkilátásait nagyban meghatározó formája a pulmonalis artériás hipertenzió (PAH) és az interstitialis légzőszervi betegség (ILB) [60,61]. A két kórforma együtt is megjelenhet.

Pulmonalis artériás hipertenzió (PAH):

Az MCTD patomorfológiai sajátossága az érobliterációval járó vasculopathia. MCTD-ben a PAH a pulmonalis arteriolákban zajló érobliterációval járó endothelsejt proliferáció, subendothelialis gyulladás és media hypertrophia következtében alakul ki.

Prakash és munkatársai MCTD-ben a PAH gyakoriságát 10-45%-nak találta [61]. Alpert jobb szívfél katéterezéssel az MCTD-s betegek 65%-ában mutatott ki PAH-ot [62].

A pulmonalis artériás hipertenzió kialakulhat rapidan, amikor láz, haemoptoe, tachypnoe, dyspnoe jelentkezik. Ilyenkor nehéz a tünetek elkülönítése a pulmonalis emboliától. Az echokardiográfiás vizsgálatkor magas, 50 Hgmm-t meghaladó pulmonalis nyomás jelezheti a PAH fennállását.

Számos tanulmány alátámasztja, hogy MCTD-ben a PAH rossz kimenetelű. Kortikoszteroidra (KS) és immunszuppresszív kezelésre változó, gyakran csak mérsékelt a terápiás válasz. A PAH a mortalitás fő oka MCTD-ben [43,60,61].

A korai felismerés, az időben alkalmazott endothelsejt proliferációt és gyulladásos mediátorok termelődését csökkentő immunszuppresszív kezelés - elsősorban cyclophosphamid és bólus kortikoszteroid alkalmazása - prosztaciklin terápia, endothelin receptor blokkolók adása mellett a PAH mortalitása jelentősen csökkenthető [63]. A kombinált kezelés ellenére is az MCTD-s betegek halálozásának felét PAH okozza.

A tüdőparenchyma károsodásával járó **interstitialis légzőszervi betegség (ILB)** a másik leggyakoribb légzőszervi eltérés MCTD-ben. Az ILB az idiopathiás interstitialis

pneumoniák American Thoracic Society 2002-ben módosított kritériumai alapján a nonspecifikus interstitialis pneumoniák közé sorolható.

Az ILB előfordulását MCTD-ben korábbi tanulmányok 20-65 % közöttinek találták [43,61,64]. Fibrózis kialakulása szisztémás sclerosissal ellentétben nem jellemző MCTD-ben. A pneumonitisek, alveolitisek azonban gyakran recidiválnak, idővel cor pulmonalehoz vezetnek.

Az ILB általában köhécseeléssel, kismértékű fulladással kezdődik, amit általános tünetek, mint levertség, láz, étvágytalanság kísérnek. Mellkas röntgen felvételen interstitialis infiltráció látható, mely rendszerint az alsó lebenyekben kezdődik. Az ILB kimutatására a HRCT kitűnően alkalmazható eljárás, amivel már korai szakban kimutatható az ILB-re jellegzetes tejüvegszerű homály [65].

Pleuritis a betegség aktivitásával gyakran megjelenik, általában jóindulatú, kortikoszteroid kezelésre jól reagál.

A **kardiális eltérések** közül leggyakoribb a pericarditis, az irodalmi adatok alapján előfordulása 30 % is lehet MCTD-ben [62,66,67]. A pericarditis és a myocarditis sokszor nem kerül felismerésre, ha a beteg a bordaközi izmok gyulladását, fájdalmát erősebbnek érzi. A pericarditis általában enyhe lefolyású, kis dózisú KS kezelésre jól reagál. Az irodalomban 4 pericardialis tamponáddal szövődött MCTD-s beteget is ismertettek [68-71].

Alpert és munkatársai megfigyelései szerint a mitralis prolapsus szindróma MCTD-ben gyakoribb, mint az egészséges populációban, a vizsgált betegek 26 %-ában észlelték, gyakran okozott tachycardiát, mellkasi fájdalmat [62].

A szívizom érintettsége MCTD-ben ritka. Gyakran a láz, tachycardia, galoppitmus, EKG-n interventricularis vezetési zavar, szívelégtelenség jelzi a myocarditist. A kardiális nekroenzimek emelkedettek lehetnek [72]. Echokardiográfiás vizsgálattal a jobb kamra dilatációja kifejezettebb, mint a bal kamra dilatációja [52,66]. Manifeszt szívelégtelenség kialakulása előfordulhat első tünetként is MCTD-ben. Schwagten akut jobb és bal szívfél elégtelenséggel kezdődő MCTD-s beteget ismertetett [73]. Hamman és munkatársai egy 30 éves myocarditissel szövődött MCTD-s beteg sikeres kezeléséről számoltak be cyclophosphamiddal kombinált KS kezeléssel [74]. A myocardium érintettség többnyire rossz prognózist jelez MCTD-ben.

Mellkasi fájdalmat, anginás panaszokat vált ki az epicardium és intramuralis coronaria artériák proliferatív vasculopathiája.

Gastrointestinalis panaszok közül MCTD-s betegekben a nyelőcső motilitási zavar a leggyakoribb [75,76]. Marshall az MCTD-s betegek 43%-ában [75], Doria 85%-ában észlelt nyelőcső motilitászavart, ami többnyire a nyelőcső alsó harmadát érintette [77]. A motilitászavar kezdetben tünetmentes lehet, a kórlefolyás során a betegeknél gyomorégés, savas vagy epés reflux jelentkezik, és dysphagia a fő panasz. A nyelőcső alsó kétharmadában csökken a perisztaltika és az oesophagus sphincter nyomása [78,79]. MCTD-ben a nyelőcső érintettség és a kialakult fibrózis kevésbé súlyos, mint szisztémás sclerosiban [77].

A nyelőcső érintettség mellett egyéb gastrointestinalis manifesztációk is előfordulnak. Autoimmun hepatitis, primer biliaris cirrhosis, pancreatitis társulása ritka MCTD-hez [80,81]. Furuya és munkatársai MCTD-hez társult proteinvesztő enteropathia sikeres kezeléséről számoltak be cyclophosphamiddal [82]. Vasculitis MCTD-ben érintheti a mesenterialis ereket is, gastrointestinalis vérzést okozva. Egy esetben fatális gastrointestinalis vérzésről számoltak be MCTD-ben [75,83,84].

A gastrointestinalis tünetek az MCTD fennállásának idejével mutatnak szoros összefüggést [75].

Veseérintettség glomerulonephritis (GN) formájában az MCTD-s betegek 10-25 %-ában figyelhető meg. Egy 30 MCTD-s beteget összefoglaló tanulmányban 11 betegnél mutattak ki veseérintettséget [85]. A betegek többségében membranosis vagy mesangialis glomerulonephritis alakult ki, de fokális és diffúz proliferatív glomerulonephritis is előfordult. A 11 betegből 9 betegnek volt nephrosis szindrómának megfelelő mértékű (>3,5 g fehérje ürítés/nap) proteinúriája. A nephritises betegek 72%-a, a nephrosis szindrómás MCTD-s betegek 62%-a jól reagált KS kezelésre. 1994-ben Sawai és munkatársai MCTD-s betegek kórboncolása során 64%-ban talált veseérintettséget, a leggyakoribb elváltozás a membranosis glomerulonephritis volt [86]. A betegek sokszor panaszmentesek lehetnek, és a proteinuria miatt végzett vesebiopszia igazolja a glomerulonephritist [87,88].

A felnőttkori formával ellentétben a gyermekkorban kezdődő és juvenilis MCTD-ben gyakoribb és súlyosabb formában zajlik a GN [89].

MCTD-s betegekben az artéria renalisok intima megvastagodását is leírták [86]. A renális artériák intima proliferációja renális krízis kialakulásához is vezethet: Yamaguchi egy fiatal MCTD-s nőbetegéről számolt be, akinél PAH és renális krízis egyidejűleg jelentkezett intimaproliferáció következtében [90].

Idegrendszeri tünetek

A trigeminus neuralgiform fájdalom gyakori, sokszor első tünete a betegségnek [91]. MCTD-ben jelentkező fejfájás többnyire vascularis eredetű, sokszor hasonló a migrainhez. Vírus-, bakteriális fertőzés vagy ibuprofen szedése aszeptikus meningitist provokálhat [92]. SLE-vel ellentétben MCTD-ben pszichózis, convulsio kialakulása ritka. A cerebrospinális fluidumban kimutatható anti-U1-RNP szint összefüggést mutat a neuropszichiátriai manifesztációkkal MCTD-ben [93]. Egyéb neurológiai manifesztációkat is ismertettek MCTD-ben (intracranialis vérzés, transzverz myelitis, cauda equinea szindróma, optikus neuropathia, retinalis vasculitis) [94-97].

Hematológiai eltérések közül a hypergammaglobulinaemia, Coombs pozitivitás, továbbá anaemia, leukopenia és thrombocytopenia a leggyakoribbak MCTD-ben. Leukopenia 20-25 %-ban észlelhető, és gyakran a betegség aktiválódását jelzi. Az anaemia a betegség aktivitásával szintén gyakran korrelál, és immunszuppresszív terápia hatására javulást mutathat.

Az irodalomban 18 súlyos thrombocytopeniával szövődött MCTD-s esetet ismertettek [98-105]. Thrombocytopenia leggyakoribb oka MCTD-ben a thrombotikus thrombocytopeniás purpura (TTP). A TTP MCTD-ben súlyos, akár fatális kimenetelű is lehet, 8 halálos kimenetelű MCTD-TTP társulást közöltek az irodalomban [104-106].

Tiszta vörösvértest aplasiát egy betegnél írtak le MCTD-ben [107].

II.5. Vasculopathia MCTD-ben

MCTD-re jellemző sajátosság az érobliterációval járó vasculopathia. 1984-ben Sullivan az MCTD-ben meghalt betegek kórszövettani vizsgálata során észlelte először a kis artériák, arteriolák endothelsejt proliferációját, intima hyperplasiáját, media megvastagodását a pulmonalis artériákban [43]. Ueda és mtsai az MCTD-ben bekövetkezett váratlan halálesetek mögött a tüdő kisartériák koncentrikus fibroelasztikus intima proliferációját találták [108]. Hosoda és mtsai 1987-ben 11 MCTD-ben meghalt beteg mindegyikében az intima megvastagodását észlelték, a media hypertrophisált. A 11 betegből 7 esetben a primer pulmonalis hipertenzióra jellemző plexiform laesio és a lokálisan képződött microthrombusok jelenléte sajátos kórszövettani eltérés volt [109].

A vasculopathia valamennyi szerv ereit érinti, nemcsak a pulmonalis erekben, hanem a szív koszorúereiben, az endomyocardialis erekben, a gasztrointesztinális traktus és vese

arterioláiban is kimutatható. Klinikailag legmeghatározóbb és a prognózist leginkább befolyásolja a pulmonalis arteriolákban zajló vasculopathia, mely pulmonalis artériás hipertenzió formájában nyilvánul meg.

II.6. Autoantitestek MCTD-ben

Az MCTD diagnózis felállításának alapja a sejtmag uridinben gazdag ribonukleoproteinje ellen termelődő anti-U1-RNP autoantitest kimutatása a beteg szérumában. Az anti-U1-RNP antitest az MCTD klasszifikációs kritériuma, de egyéb antitestek is jelen lehetnek MCTD-ben, melyek módosíthatják az MCTD megjelenését és lefolyását.

Rheumatoid faktor a betegek 50 %-ában kimutatható, a titeremelkedés főleg a betegség kezdetén az arthritis súlyosságát is jelzi.

2004-ben Takasaki az MCTD-s betegek 9 %-ában, 2011-ben Yin a betegek 16 %-ában mutatott ki ciklikus citrullinált peptidek ellen termelődő anti-CCP antitesteket [110,111]. Az anti-CCP antitestek szérumszintje szignifikánsan magasabb a súlyos ízületi érintettséggel rendelkező MCTD-s betegekben [110]. Az anti-CCP antitest MCTD-ben az eroziók prediktora lehet [111].

Az MCTD-s betegek szérumában a foszfolipid struktúrák ellen termelődő antitestek is kimutathatók. Az immunglobulin G (IgG) típusú anti-cardiolipin (anti-CL) antitestek előfordulását Komatireddy 15 %-nak, Doria és munkatársai 18 %-nak találták [112,113]. Hasegawa és munkatársai anti- β 2-GPI IgG antitesteket 10,3 %-ban mutatott ki MCTD-s betegekben, jelenlétük összefüggött a pulmonalis artériás hipertenzióval [114].

MCTD-ben az endothelsejtet károsító tényezők közé tartozó endothelsejt elleni antitestek (AECA) is kimutathatók, melyek IgG típusúak. Ezek az antitestek heterogének, lehetnek direkt citotoxikusak az endothelre, vagy aktiválják/károsítják az erek endothelsejtjeit, és megváltoztatják azok funkcióját. Sasaki, Hoffman munkacsoportja mellett Bodolay Edit munkacsoportja is összefüggést talált az endothelsejt elleni antitestek jelenléte, az artériás és vénás thrombosisok gyakorisága, valamint a betegekben észlelt pulmonalis artériás hipertenzió között [115-117]. A pulmonalis endothelsejtek károsodásában egyik kezdeti lépés lehet az endothelsejt elleni antitestek általi aktiváció.

A közelmúltban MCTD-s betegekben a vasculopathia, digitalis ischaemia és a PAH összefüggését mutatták ki az angiotenzin konvertáz enzim 2 elleni antitestekkel [118].

II.7. Az MCTD klasszifikációja

Az MCTD-t jelenleg 4 kritériumrendszer alapján diagnosztizálják. 1987-ben publikálták a Sharp, Kasukawa és Alarcon-Segovia által meghatározott klasszifikációs kritériumokat, majd néhány évvel később, 1991-ben jelent meg a Kahn kritériumrendszer [119-122]. A 4 kritériumrendszert a **2. táblázat** foglalja össze.

2. táblázat. Klasszifikációs kritériumrendszerek MCTD-ben

Alarcon-Segovia és Villarreal (1987.)	Sharp (1987.)	Kasukawa (1987.)	Kahn (1991.)
Kritériumok:			
Szerológiai: • anti-RNP pozitivitás ($\geq 1:1600$ hemagglutinációs titer) Klinikai: • kézhatóduzzanat • Raynaud jelenség • synovitis • myositis • acrosclerosis	Major: • súlyos myositis • tüdőérintettség: -DLCO <70 % -PAH - tüdőbiopsziában proliferatív vasculopathia Minor: • Raynaud jelenség vagy nyelőcső motilitászavar • kézhatóduzzanat vagy sclerodactylia • anti-ENA $\geq 1:10000$ és anti-RNP +, anti-Sm - • pleuritis/pericarditis • arthritis • trigeminus neuralgia • malar rash • alopecia • enyhe myositis • kézhatóduzzanat az anamnézisben • leukopenia • anaemia • thrombocytopenia	I. Gyakori tünetek: • Raynaud jelenség • kézhatóduzzanat II. Anti-RNP pozitivitás III. Kevert tünetek: A. SLE-szerű tünetek: • polyarthritis • lymphadenopathia • arc erythema • pericarditis/pleuritis • leuko-/thrombocytopenia B. SSc-szerű tünetek: • sclerodactylia • tüdőfibrózis, %VC<80%, DLCO<70% • nyelőcső dilatatio vagy motilitászavar C. PM-szerű tünetek: • izomgyengeség • emelkedett CK szint • pozitív EMG	Szerológiai: • anti-RNP pozitivitás immundiffúzióval vagy immunblottal igazolva (anti-RNP$\geq 1/2000$) Klinikai: • Raynaud jelenség • synovitis • myositis • kézhatóduzzanat
Diagnózis felállításának feltétele:			
szerológiai kritérium és min. 3 klinikai kritérium teljesülése, beleértve a myositist vagy synovist	Biztos dg.: min. 4 major kritérium és anti-RNP pozitivitás (min.titer 1:4000),	2 gyakori tünet közül min.1 jelenléte, anti-RNP pozitivitás, és min.1 kevert tünet, min. 2 csoportból	szerológiai kritérium és a Raynaud jelenség mellett min. 2 klinikai kritérium teljesülése

A 4 kritériumrendszer közös alapja a nukleáris RNP elleni autoantitest kimutatása a betegek szérumában.

Sharp 1987-ben az MCTD-ben előforduló tünetek gyakorisága alapján csoportosított, és az MCTD biztos, valószínű és lehetséges diagnózisát különítette el. Alarcon-Segovia és Kahn kritériumtünetei hasonlóak: Alarcon-Segovia az anti-RNP autoantitest jelenlétét tekintette a betegség alapfeltételének, míg Kahn az anti-RNP autoantitestet és a Raynaud jelenséget.

1989-ben Alarcon-Segovia és munkacsoportja 593 szisztémás autoimmun betegen hasonlította össze az első három kritériumrendszert. Mindhárom módszer szenzitivitása magasnak, közel 100 %-nak bizonyult MCTD-ben, azonban a Sharp kritériumok specificitása elmaradt a többtől [123].

1996-ban Amigues egy kisebb, 45 főből álló anti-RNP pozitív betegcsoportban vetette össze a 4 kritériumrendszert. A szenzitivitás és specificitás alapján az Alarcon-Segovia és a Kahn kritériumokat találta legmegbízhatóbbnak az MCTD diagnosztizálásában [124].

Az elmúlt évek irodalmi hivatkozásai Alarcon-Segovia és Villarreal klasszifikációs rendszerét használják, ami alapján a diagnózis szenzitivitása közel 100 %, specificitása 99,6 %.

II.8. Mortalitás

Az MCTD-t kezdetben jóindulatú, kis dózisú kortikoszteroiddal könnyen kezelhető autoimmun kórképnek tartották [1].

1980-ban Nimelstein és munkatársai a Sharp által MCTD-snek tartott 25 beteg követésekor elsőként igazolták, hogy a betegség mortalitása magas [54]. A 10-12 éves követési idő alatt a mortalitás 12-28 % közötti [9,36,43,109]. Az MCTD jelentős belszervi érintettséggel jár, ami közül a pulmonalis manifesztáció dominál, és elsősorban ez felelős a rossz prognózisért.

1984-ben Sullivan és mtsai átlagosan 11 éven át követett (6-12 év) 34 MCTD-s beteg mortalitását 12 %-nak találta, a fő halálok a pulmonalis artériás hipertenzió volt [43]. Sullivan tanulmányában a meghalt 11 betegből 9-nél volt kimutatható halálok a pulmonalis artériás hipertenzió. Proliferatív vasculopathia alakult ki a tüdőkben és az endomyocardialis erekben.

Hosoda és mtsai 1987-ben 11 MCTD-ben meghalt beteg mindegyikében az intima megvastagodását észlelték, a media hypertrophisált. A 11 betegből 7 esetben a primer pulmonalis hipertenzióra jellemző plexiform laesio és a lokálisan képződött microthrombusok jelenléte volt a sajátos kórszövettani eltérés [109].

Burdtt és mtsai 47 beteg átlagosan 15 éves követési ideje (3-29 év) alatt 23%-os mortalitást észleltek. Fő halálok ebben a betegpopulációban is a PAH volt. Posztmortem vizsgálatok

intima proliferációt, media hypertrophiát mutattak a pulmonalis artériákban, azonban fibrózis nem volt kimutatható [9].

Súlyos bakteriális infekció (pneumonia, peritonitis és sepsis) a második leggyakoribb halálok MCTD-ben [43]. Néhány esetben myocarditis következtében kialakult dilatatív cardiomyopathia volt a halálok [72].

A juvenilis MCTD kimenetele szintén kedvezőtlen. Gyerekkorban a betegség mortalitása egy 224 esetet összefoglaló közlemény alapján 7,6 %. A gyerekkori MCTD halálozása magasabb a gyerekkori SLE-hez (4,8%) és szisztémás sclerosishoz képest (5,3%) [125]. Juvenilis MCTD-ben a leggyakoribb halálok az infekció és PAH mellett a cerebralis szövődmények, a myocarditis, továbbá a felnőttkori formától eltérően a veseérintettség (glomerulonephritis, haemolyticus uraemiás szindróma).

III. CÉLKITŰZÉSEK

1. Munkám során célom volt az MCTD hosszú távú kórlefolyásának vizsgálata. Azt vizsgáltam, milyen az MCTD túlélése, milyen szervi érintettség mellett lehet kedvezőtlen prognózissal számolni, és milyen patomorfológiai eltérések jellemzik az MCTD-ben meghalt betegeket.
2. Célom volt annak elemzése, hogy az MCTD egységes fenotípussal jellemzett betegség-e. Arra kerestem 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 vizsgáltam a D-vitamin szint alakulását, valamint a D-vitamin hiány és az egyes szervi eltérések közötti összefüggést. Arra kerestem választ, hogy van-e összefüggés az MCTD-s betegek cardiovascularis érintettsége és a D-vitamin szint között.
4. Vizsgáltam az MCTD-s betegekben észlelt immunmediálta halláscsökkenést, és megnéztem, hogy milyen klinikai jellemzők, autoantitestek és immunszerológiai sajátosságok befolyásolják annak kialakulását.
5. Meghatároztam az MCTD-s betegek perifériás vérében keringő B-sejt alcsoportokat. Vizsgáltam, hogy a betegség aktivitása hogyan befolyásolhatja a B-sejt alcsoportok arányát. Vizsgáltam, hogy MCTD-ben az anti-U1-RNP autoantitestek tartósan magas szintje és a B-sejt alcsoportok megoszlása között van-e összefüggés.

IV. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

IV.1. Betegek

Munkám során a DEOEC Belgyógyászati Intézet Klinikai Immunológiai Tanszékén 1979 óta gondozott 280 magyar MCTD-s beteg adatait dolgoztam fel.

A munkába bevont 280 beteg diagnózisa jelenleg is MCTD. Az MCTD-t az Alarcon-Segovia és Villarreal által leírt klasszifikációs kritériumok alapján diagnosztizáltuk [119]. Az MCTD kritériumtüneteit a 2. táblázatban tüntettem fel. Ezek a következők:

- Klinikai tünetek:

1. Kézhat- ujjduzzanat
2. Synovitis
3. Myositis (EMG eltérés és/vagy szövettan és CK emelkedés)
4. Raynaud jelenség
5. Acrosclerosis (proximalis SSc tüneteivel vagy anélkül)

- Immunszerológiai sajátosság:

A nukleáris RNP elleni autoantitest jelenléte.

MCTD véleményezhető, ha az anti-RNP autoantitestek jelenléte mellett minimum 3 klinikai kritérium teljesül, beleértve a myositist vagy synovitist.

Az izom-, nyirokcsomó mintavételt a DOTE, a későbbi DEOEC Sebészeti Intézetében, a szövettani minták értékelését a DEOEC Patológiai Intézetben végezték. 1979 és 2012 között diagnosztikus és terápiás célzattal 105 izombiopszia, 47 bőrbíopszia, 6 nyitott tüdőbíopszia, 14 transbronchialis bíopszia, 8 vese-, 3 máj-, 52 pajzsmirigy- és 44 ajakbíopszia történt.

A képalkotó vizsgálatok, mellkas- és csontfelvételek, CT, MR, angiográfia a DEOEC Radiológiai Klinikán, az izotóp vizsgálatok (kéz perfúzió, nyelőcső, tüdő szcintigráfia) a DEOEC Nukleáris Medicina Tanszéken készültek. Az értekezésben felhasznált laboratóriumi, immunszerológiai vizsgálatok a DEOEC Klinikai Biokémiai és Molekuláris Patológiai Intézetben, a Montreali Egyetem Kutatólaboratóriumában és a DEOEC III. sz. Belgyógyászati Klinika Regionális Immunológiai Laboratóriumában készültek.

A betegek szérumában az U1-RNP ellen termelődött autoantitestek kimutatása az MCTD klasszifikálásának alapfeltétele.

A betegek állapotától függően a vizsgálatok jelentős része (képalkotó eljárások, EMG, légzésfunkciós tesztek, stb.) a járóbeteg szakrendelésen történt. Általános tünetek - láz, fogyás, étvágytalanság - illetve súlyos szervi panaszok esetén a belgyógyászati átvizsgálást klinikánkon végeztük. A részletes anamnézis és fizikális vizsgálat mellett minden vizit alkalmával történt vörösvértest süllyedés, nagy érzékenységű (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 plethysmographia, DLCO), nyelőcső-, gyomor-bélpaszázis vizsgálat, echokardiográfia, hasi ultrahang, carotis duplex ultrahang, EMG, ENG vizsgálat, Schirmer teszt, könnyfilm felszakadási idő vizsgálata, melyek a társklinikákon történtek.

A betegeket általában három-négyhavonta, illetve a szükségletnek megfelelően ellenőriztük. Ilyen módon lehetővé vált, hogy az újonnan fellépett szervi tüneteket folyamatában kövessük, és egyben lehetőségünk nyílt arra is, hogy az alkalmazott gyógyszerek hatásosságáról is meggyőződjunk.

Myositist pozitív izombiopszia és/vagy EMG vizsgálattal és emelkedett kreatin-kináz érték alapján diagnosztizáltunk.

Raynaud jelenséget hideg-provokációs teszttel és körömágy kapillármikroszkópia alapján véleményeztünk (Nikon Corp, Bécs, Ausztria).

Nyelőcső motilitászavar kimutatása báriumos/gastrographinos nyelésröntgennel történt. Nyelőcső szcintigráfia 20 Mbq radioaktivitású DTPA nyeletéssel történt Gaál és mtsai módszerével [126].

Pulmonalis artériás hipertenziót véleményeztünk, ha a Doppler echokardiográfiával mért jobb kamrai szisztolés nyomás nyugalomban > 25 Hgmm volt. Jobb szívfél katéterezés 20 betegben történt a Doppler echokardiográfiával párhuzamosan.

Magas felbontóképességű computed tomography (HRCT) az interstitialis tüdőérintettség kimutatására alkalmas módszer (Siemens, Somatom Plus 4 CT). A CT lelet értékelése és a súlyossági fok megítélése Wells és mtsai, Dévényi és mtsai módosítása alapján történt [127,128].

Tüdőbiopsziát végeztünk, amikor a mellkas röntgen, CT vagy HRCT vizsgálattal nem lehetett egyértelműen kizárni a malignus folyamatot. A tüdőbiopsziás lelet szövettani beosztása az idiopathiás interstitialis pneumoniák American Thoracic Society 2002-ben módosított klasszifikációja alapján történt.

Minden MCTD-s betegnél történt csontsűrűség vizsgálat Lunar-DPX DEXA készülékkel (Lunar Radiation Corporation, Madison, WI, USA). Osteoporosis és osteopenia a WHO klasszifikációs kritériumok alapján került diagnosztizálásra [129].

Ischaemiás szívbetegséget véleményeztünk, ha a betegnek akut myocardialis infarctusa zajlott; vagy az évente ismételt EKG, echokardiográfia lezajlott myocardialis infarctust jelzett; vagy coronaria bypass műtétet vagy percutan coronaria intervenciót igénylő coronaria betegsége volt; vagy a betegnek angiográfiával, non-invazív vizsgálattal igazolt ischaemiás szívbetegsége volt.

MCTD-hez társult secunder antifoszfolipid szindróma fennállását (APS) Miyakis és munkatársai által meghatározott kritériumok alapján véleményeztünk [130].

Az arteria carotis intima-media vastagság (IMT) meghatározása HP Sonos 5500 készülékkel, 5-10 MHz-es lineáris transzducerrel történt. Mindkét oldalon 10-10 mérést végeztünk, a méréseket átlagoltuk, az eredményeket mm-ben adtuk meg.

Az MCTD klinikai aktivitását az SLE activity measure (SLAM) score segítségével ítéltük meg. Magas aktivitású betegségnek a 6 vagy e feletti SLAM értéket tekintettük [131,132].

IV.2. Laboratóriumi mérések

Autoantitestek meghatározása:

Az **antinukleáris antitestek** (ANA) azonosítása indirekt immunfluoreszcenciával történt (ImmuGloTM, IMMCO Diagnostics, Inc., Buffalo, NY), szubsztrátként HEp-2 sejteket alkalmazva. A 16 pozíciós mikrotiter lemez vájolataiba humán epithelialis carcinoma eredetű HEp-2 sejttenyészet van kitapasztva, amelyet a beteg 1:40-re hígított szérumával inkubálunk. Az inkubációs idő alatt a mintában lévő antitestek kötődnek a sejtmag és/vagy a citoplazma különböző szerkezeti elemeivel, és stabil komplexet képeznek. A metszetre FITC-cel (fluoreszcein-izotiocianát) konjugált anti-humán IgG-t cseppentünk. A preparátumot fluoreszcens mikroszkóppal értékeljük. A fluoreszcencia mintázat alapján a sejtmagban pettyes, ún. granularis, homogén, perifériás, nuclearis, nucleolaris festődési mintázat különíthető el.

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-ds-DNS**, **anti-cardiolipin (IgG, IgA, IgM)**, **anti-β2-GPI (IgG,**

IgA, IgM) (Orgentec Németország), **anti-CCP** (Immunoscan CCPlus, Euro-Diagnostica, AB, Malmö, Svédország). Cut off értékek: anti-U1-RNP: 5 U/ml, anti-SSA, anti-SSB, anti-Jo1, anti-Scl-70: 10 U/ml, anti-ds-DNS 10 U/ml, anti-CL IgG: 10 U/ml, IgA: 7 U/ml, anti-CL-IgM: 5 U/ml, anti- β 2-GPI:IgG, IgA, IgM: 5 U/ml, anti-CCP: 25 U/ml.

IgM RF meghatározása nephelometriával történt, 50 U/l feletti értéket tekintettük pozitívnak.

Az **endothelsejt elleni antitestek** meghatározásához az endothelsejteket humán köldökvénából nyertük, az endothelsejt elleni antitestek mérésére ELISA technikát alkalmaztunk, a korábban leírt módszer szerint [133].

Szérum IFN- γ , IL-12, IL-17, IL-6, IL-23 és IL-10 meghatározása:

A plazma citokin 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 minimálisan detektálható citokin koncentráció IL-6 esetében 0,7 pg/ml, IL-23 esetében 78 pg/ml, IL-10 esetében 7,8 pg/ml, IL-17 esetében 15 pg/ml és IFN- γ esetében 5,6 pg/ml volt. Az intra-assay és inter-assay variációs koefficiens <5% és <10% volt. Az eredmények kiértékelése ELISA leolvasó készüléken történt (Labsystems Multiskan MS (típus: 352) Labsystems OY, Helsinki, Finnország).

A **trombomodulin** (TM) (Diagnostica Stago, Asnieres, Franciaország) és **endotelin-1** (ET-1) (Biomedica, Bécs, Ausztria) szintek meghatározásához ELISA technikát alkalmaztunk a gyártó utasítása szerint. A TM szint mérésekor 5 U/ml, ET-1 esetében 0,1 fmol/ml volt az alsó mérési határ. Az intra-assay és inter-assay variációs koefficiens <5% és <10% volt.

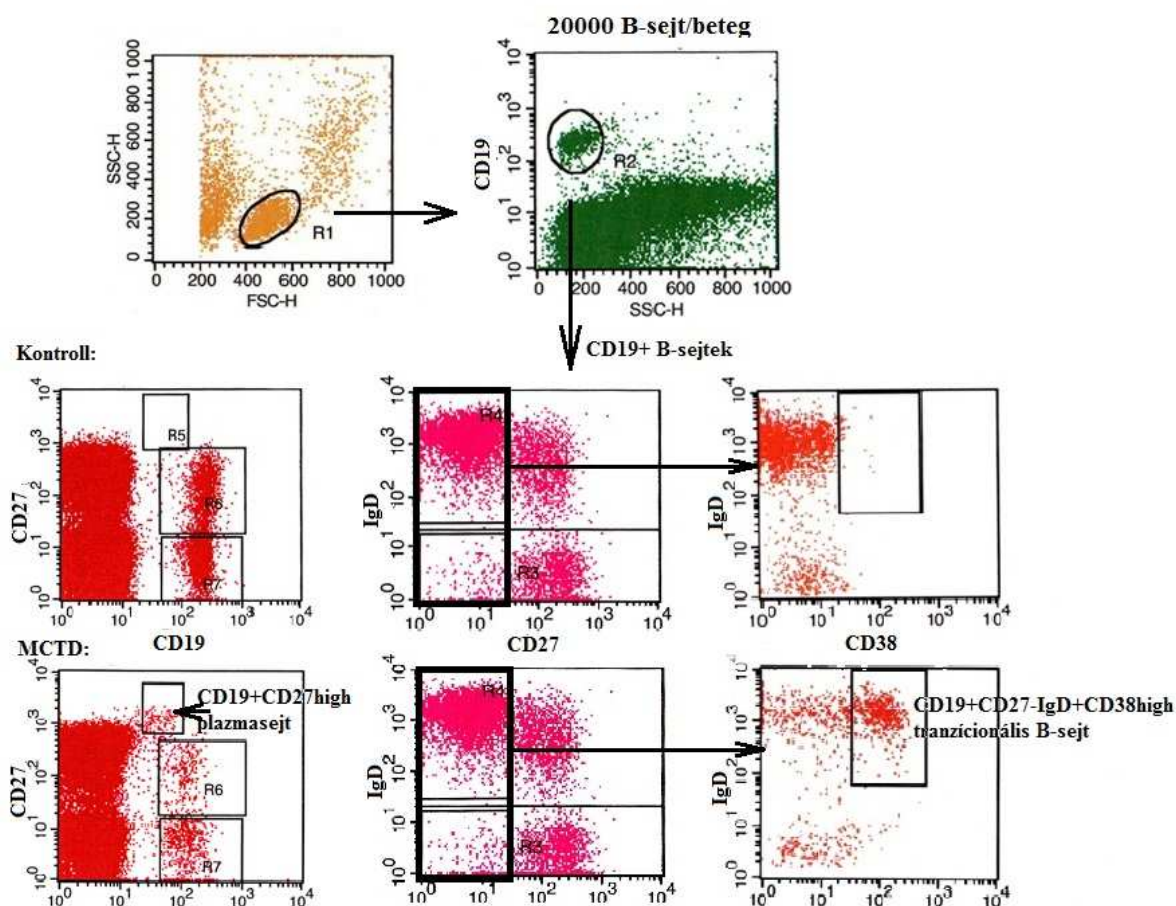
A **von Willebrand faktor antigén** (vWFAg) meghatározása immunturbidimetriás módszerrel történt (Diagnostica Stago, Asnieres, Franciaország).

B-sejt mérések:

B-sejt alcsoportok vizsgálatához 10-20 ml frissen vett (<2 óra) heparinos, perifériás vért használtunk. Perifériás vérből mononukleáris sejteket (PBMC) izoláltunk Ficoll gradiens módszerrel. PBMC-t kétszeri mosást követően 1×10^6 sejt/ml koncentrációban PBS-ben reszuszpendáltuk. Immunfluoreszcens jelöléshez a következő monoklonális antitesteket használtuk: peridinin chlorophyll protein-Cy5.5 (PerCP-Cy5.5)-jelölt anti-CD19 (BioLegend, San Diego, CA, USA); allo-phycoerythrin (APC)-jelölt anti-CD27; phycoerythrin (PE)-jelölt anti-IgD; fluorescein isothiocyanate (FITC)-jelölt anti-CD38; FITC-jelölt anti-CD95 (BD

Biosciences, Heidelberg, Germany). A sejteket PBS-ben 30 percig 4 C fokon inkubáltuk, majd mosást követően a sejteket 1 %-os paraformaldehiddel fixáltuk. A mérést FACSCalibur áramlási citométeren végeztük, a kiértékelés a CellQuest szoftver segítségével történt. A 2. ábra a periféírás B-sejtek kapuzási stratégiáját foglalja össze.

2. ábra. B-sejt mérésekhez alkalmazott kapuzási stratégia:



A sejtek oldalirányú (SSC paraméter) és előre irányuló (FSC paraméter) szórása alapján első lépésben kikapuzztuk a limfocitákat. Az így kijelölt sejteken belül vizsgáltuk tovább a CD19-et expresszáló B-sejteket. A B-sejteket az anti-CD27, anti-IgD és anti-CD38 monoklonális antitestek expressziója alapján a következő alcsoportokra bontottuk: 1. tranzicionális B-sejt ($CD19+CD27-IgD+CD38^{high}$), 2. naív B-sejt ($CD19+CD27-IgD+CD38^{low}$), 3. izotípusváltás előtti memória B-sejt ($CD19+CD27-IgD+$), 4. konvencionális memória B-sejt ($CD19+CD27-IgD-$), 5. kettős negatív B-sejt ($CD19+CD27-IgD-$) és 6. plazmasejt ($CD19+CD27^{high}IgD-$). A kettős negatív B-sejteket a sejtfelszíni CD95 expresszió

alapján két további csoportra osztottuk (CD95+ és CD95-). Minden egyes méréshez legalább 20000 CD19+ limfocita került kapuzásra.

CD4+ T-sejtek intracitoplazmatikus IL-10 és IFN- γ citokin tartalmának meghatározása:

A CD4+ T-sejtek intracitoplazmatikus IL-10 és IFN- γ citokin tartalmának meghatározása heparinnal alvadásgátolt perifériás vérből történt. A perifériás vér 1 ml-ét 1:2 arányban hígítottuk RPMI-1640 tápfolyadékkal. A limfocitákat phorbol-miristate-acetate-tal (PMA, 25 ng/ml) és Ionomycinnel (1 μ g/ml) stimuláltuk 4 órán keresztül 5 %-os CO₂ koncentráció mellett 37 °C-os termosztátban. A de novo szintetizálódott citokinek kiürülését a Golgi készülékből Brefeldin-A-val gátoltuk (10 μ g/ml). A stimulálást követően 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 számának meghatározása a perifériás vérből:

A CD4+CD25^{high}FoxP3+ természetes regulatórikus T-sejtek vizsgálatához heparinnal alvadásgátolt vérmintákból PBMC-t izoláltunk. A sejteket PBS-be vettük fel, és hozzáadtuk a sejtekhez az anti-CD4-FITC, anti-CD25-PC5 jelölésű monoklonális antitesteket. A sejteket 30 percig, sötétben, szobahőmérsékleten inkubáltuk. Ezt követően az intracellularis FoxP3 jelölést a gyártó utasításainak megfelelően végeztük el. A sejteket először hideg PBS-ben mostuk, majd 1 ml frissen elkészített permeabilizáló pufferben felfuszpendáltuk, és 30 percig, sötétben, 4°C-on inkubáltuk. Végül a sejteket permeabilizáló pufferben mostuk, és 500-500 μ l „Flow Cytometry Staining Bufferbe” felvéve, áramlási citométeren analizáltuk. A mérést FACSCalibur áramlási citométeren végeztük, a kiértékelés a CellQuest szoftver segítségével történt.

Az abszolút sejtszámok meghatározása:

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.

D-vitamin szint meghatározása:

A 25(OH)D szintek meghatározása a DEOEC Klinikai Biokémiai és Molekuláris Patológiai Intézetben történt. A vérmintákat nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával analizálták Jasco HPLC system (Jasco, Tokyo, Japán) és Bio-Rad reagens kitet használva (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). A minták előkészítése a gyártó utasítása szerint történt. Az eredményeket ng/ml-ben tüntettük fel. A 125 MCTD-s beteg és a 48 kontroll személy D-vitamin szintjét a nyári periódusban (június-október) határoztuk meg. Élettani D-vitamin szintnek a 30 ng/ml feletti 25(OH)D értékeket 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 véleményeztünk [134].

IV.3. Otolaryngológiai vizsgálatok

A betegek alapos fülészeti, audiológiai és otoneurológiai vizsgálaton estek át a DEOEC Fül-Orr-Gégészeti Klinikán, melynek során a részletes anamnézis-felvétel mellett fizikális és műszeres vizsgálatot végeztek. A fülészeti kórelőzmény alapján azokat a betegeket, akiknél a fennálló halláscsökkenés fülészeti betegséggel (pl. krónikus középfülgyulladás) vagy műtéti beavatkozással, esetleg más ismert – a sensorineuralis (SNHCS) halláscsökkenéshez vezető - kóroki tényezővel (pl. előrehaladott életkor, zajterhelés, infekció, toxikus károsodás) volt magyarázható, kizártuk a további vizsgálatokból. A dobhártya statusát otomicroscoppal (OPMI 9; Carl Zeiss, Jéna, Németország) ítéltük meg, a további vizsgálatok feltétele a negatív dobhártyakép volt. Az audiológiai kivizsgálás első elemeként tympanometriával (GSI TympStar 2, Nicolet Biomedical, Madison, WI) ellenőriztük a dobhártya-hallócsontláncolati rendszer épségét, majd tisztahang-küszöb audiometriával megállapítottuk a lég- és csontvezetési halláscsökkenés mértékét (GSI61 Clinical audiometer, Nicolet Biomedical). A csontvezetési hallásküszöböt 250, 500, 1000, 2000 és 4000 Hz frekvencián vizsgáltuk. A mért csontvezetési küszöbértékeket átlagoltuk, az így kapott átlagérték alapján a beteg hallását épnek (≤ 25 dB), vagy kis (26-40 dB), közepes (41-60 dB), nagy (61-80 dB), súlyos fokban (81-90 dB) csökkentnek, illetve süketiséggel határosnak (≥ 91 dB) véleményeztük. A kétoldali vestibularis rendszer működését a hideg (20°C) és meleg (40°C) vizes kalorikus ingerléssel kiváltott nystagmus kimerülési idejének összehasonlításával jellemeztük.

IV.4. 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, PAH, myositis, ILB, erozív arthritis, anti-CL, AECA és anti-CCP antitestek. A klaszterek számának megválasztása minden K-közép klaszterelemzésben meghatározó lépés. Először 3, majd 4 és 5 klasztert hoztunk létre az optimális klaszterszám megtalálása céljából. A klaszter közepének meghatározása után minden beteg abba a klaszterbe került, amelynek középpontjához a legközelebb helyezkedett el. Miután minden beteg klaszterbe került, kiszámoltuk az új klaszter középpontokat, majd az előző két lépést addig ismételtük, amíg a besorolás már nem változott. Végül, 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 alkalmaztunk. Szignifikánsnak a 0,05-nél kisebb P értéket tekintettük.

A 280 MCTD-s beteg mortalitásának vizsgálata során az élő és meghalt betegek klinikai tüneteit és az egyes tünetek prognosztikai szerepét khi-négyzet tesztel 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 szórásbecslést Levene próbával ellenőriztük. Az eredményeket $p < 0,05$ érték esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

V. EREDMÉNYEK

V.1. A 280 MCTD-S BETEG HOSSZÚ TÁVÚ KÖVETÉSE

V.1.1. MCTD-ben észlelt szervi érintettség a kórlefolyás során

A fejezetben az MCTD-s betegeinkben észlelt legjellemzőbb szervi eltéréseket tüntettük fel. 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 volt (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 280 beteg tüneteit és az autoantitestek előfordulását a diagnózis felállításakor, valamint a kórlefolyás során észlelt kumulatív előfordulásukat a **3. táblázatban** foglaltuk össze.

A Raynaud jelenség, kézhatóduzzanat 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 %. Az MCTD-s bőrtünetek típusa sem változott a frissen diagnosztizált MCTD-s betegekben és a követés alatt: a fotoszenzitív bőrjelenségek, teleangiectasia, hypo-hyperpigmentáció, bőr erythema előfordulása azonos volt a kórlefolyás során (MCTD kezdetekor és a követés során: erythema: 37,4 % szemben 37,2 %; fotoszenzitivitás: 39,1 % szemben 41,1 %; teleangiectasia: 13,0 % szemben 18,6 %, hypo-hyperpigmentáció: 35,8 % szemben 47,0 %).

Ugyanakkor nőtt a polyarthrit, a serositisek, a nyelőcső motilitászavar, a myositis, az interstitialis légzőszervi eltérések előfordulása (MCTD kezdetekor és a követés során: polyarthrit: 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 %, $p < 0,001$, interstitialis légzőszervi betegség: 0,7 % szemben 47,1 %, $p < 0,001$).

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 PAH jelentkezését, ami 9 betegben halállal végződött (PAH: 0% szemben 17,8%). Új tünetként észleltük MCTD-ben az antifoszfolipid szindróma (APS) társulását, a cardiovascularis eltéréseket, és a követés során egyre gyakoribb malignus tumorokat (APS: 3,9 % szemben 25,7 %, cardiovascularis eltérések: 7,5 % szemben 35 %, malignus tumor: 0% szemben 5,7%).

Raynaud jelenség

A betegek átlagosan 13 éves követése során Raynaud jelenséget 161 betegben (57,5 %) észleltünk, 43 betegben a kéz- és a lábujjak egyaránt érintettek voltak. A betegség kezdetekor a döntően hideg hatására provokálódó két- vagy háromfázisú Raynaud tünetek 53 betegben állandóvá váltak, az ujjak tartósan lividek és érzéketlenek voltak. A betegek a finom mozgásokat nem tudták elvégezni, a kezükbe fogott tárgyakat nem érezték, elejtették. Az ujjak kisebesedésével mindössze két esetben talákoztunk, melyek a mikrocirkulációt javító szerek (pentoxifyllin, prostaciklin analógok) adására gyógyultak.

Kapillármikroszkópos vizsgálattal a klinikailag tünetmentes betegekben is kimutathatók a morfológiai eltérések: többszörös hurkú kapillárisok, lassult, szakadozott áramlással és vaszkularizáció nélküli területekkel. A „scleroderma mintázat”, vagyis az óriás, tágult kapillárisokat, mikrovérzéseket, vaszkularizáció nélküli területeket mutató kapillármikroszkópos eltérések a betegség kezdetén 45 betegben (31,4 %) voltak jelen, a követés során 50 betegben (40,3 %) észleltük.

Ízületek érintettsége MCTD-ben

Polyarthrit 251/280 betegben (89,6%) szimmetrikus megjelenésű volt, a proximalis interphalangealis (PIP) és metacarpo-phalangealis (MCP) ízületeket érintette. Csuklóízületi synovitis 79 betegnek (31,4 %) volt. Metatarsophalangealis ízületi gyulladást 102 betegben (40,6 %) észleltünk. A betegség fél-/egyéves fennállása után a nagyízületi, elsősorban a térd-, váll- és csípőízületi gyulladás a betegek 57,7 %-ában (145 beteg) állandósult.

A legszembetűnőbb radiológiai elváltozás a MCP és a PIP ízületek, valamint a kéztőcsontok osteoporosisa és eróziója volt. Csuklóízületi MR-en a radioulnaris, radiocarpalis ízületben eróziókat 44 betegben (17,5 %) találtunk. Ismétlődő synovitis miatt térdízületi synoviectomiára 16 betegben került sor, térdízületi protézis implantációt 5 betegben kellett elvégezni.

3. táblázat: Klinikai tünetek és autoantitestek az MCTD diagnosztizálásakor és kumulatív gyakoriságuk a kórlefolyás során

Klinikai tünetek:	Az MCTD diagnosztizálásakor n=280	Kumulatív gyakoriság n=280	p
Polyarthrititis (erozív és nonerozív)	183 (65,3)	251 (89,6)	<0,0001
Kézhátduzzanat az ujjak orsószerű megvastagodásával	150 (53,6)	156 (55,7)	0,1
Pulmonalis artériás hipertenzió	0	50 (17,8)	-
Raynaud jelenség	141 (50,3)	161 (57,5)	0,10
Myositis	38 (13,5)	91 (32,5)	0,0001
Sclerodactylia	99 (35,3)	117 (41,8)	0,1399
Intersticialis légzőszervi betegség	2 (0,7)	132 (47,1)	0,0001
Pleuritis/Pericarditis	39 (13,9)	83 (29,6)	0,001
Idegrendszeri érintettség	35 (12,5)	56 (20,0)	0,02
Bőrtünetek	92 (32,9)	102 (36,4)	0,06
Vesebetegség	0	11 (3,9)	-
Nyelőcső motilitászavar	109 (38,9)	139 (49,6)	0,01
Roszzindulatú tumor	0	16 (5,7)	-
Kardiális betegség	21 (7,5)	98 (35,0)	<0,0001
Antiphospholipid szindróma	11 (3,9)	72 (25,7)	<0,0001
Laboratóriumi eltérések és autoantitestek			
Anaemia	52 (18,5)	63 (22,5)	0,295
Thrombocytopenia	19 (6,7)	29 (10,3)	0,173
Endothelsejt elleni antitest pozitivitás	48 (17,1)	94 (33,5)	<0,0001
Anti-CL pozitivitás	53 (18,9)	98 (35,0)	<0,0001
Anti-β2GPI pozitivitás	42 (15,0)	79 (28,2)	<0,0001
Anti-SSA pozitivitás	92 (32,8)	94 (33,5)	0,42
Anti-ds-DNS pozitivitás	2 (0,7)	9 (3,2)	0,06
Anti-Sm pozitivitás	10 (3,5)	19 (6,7)	0,125
Anti-CCP pozitivitás	21/178 ^x (11,7)	53 (18,9)	0,05

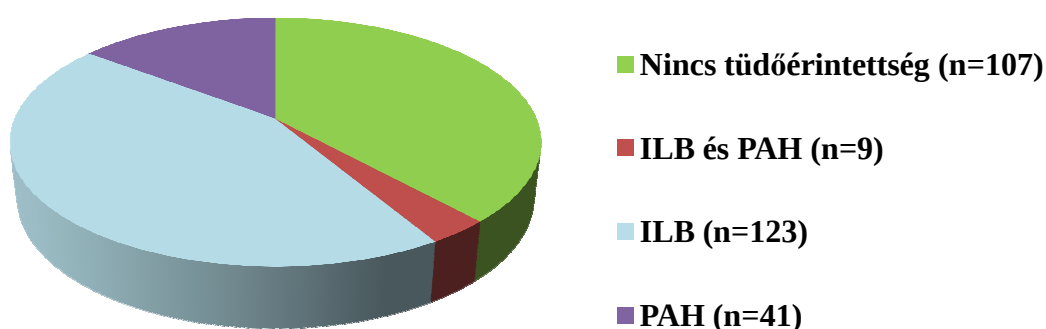
^x MCTD diagnosztizálásakor anti-CCP antitest meghatározás 178 betegben történt.

Légzőszervi eltérések MCTD-ben

Pulmonalis eltérések Sharp első, 1972-es leírásában még nem szerepeltek. Az MCTD-s betegek hosszú távú követése igazolta, hogy a betegek életkilátását a kórlefolyás során megjelenő légzőszervi érintettség jelentős mértékben meghatározza.

A pulmonalis eltérések két típusa ismert MCTD-ben: az egyik a tüdőparenchymát érintő interstitialis légzőszervi betegség, a másik a pulmonalis artériák endothelsejt proliferációjából származó pulmonalis artériás hipertenzió (3. ábra).

3. ábra. Légzőszervi eltérések előfordulása a 280 MCTD-s betegben:

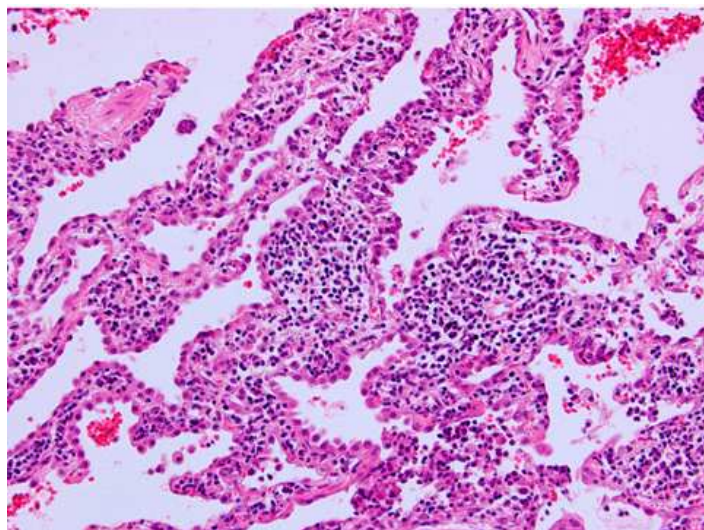


Interstitialis légzőszervi betegség MCTD-ben:

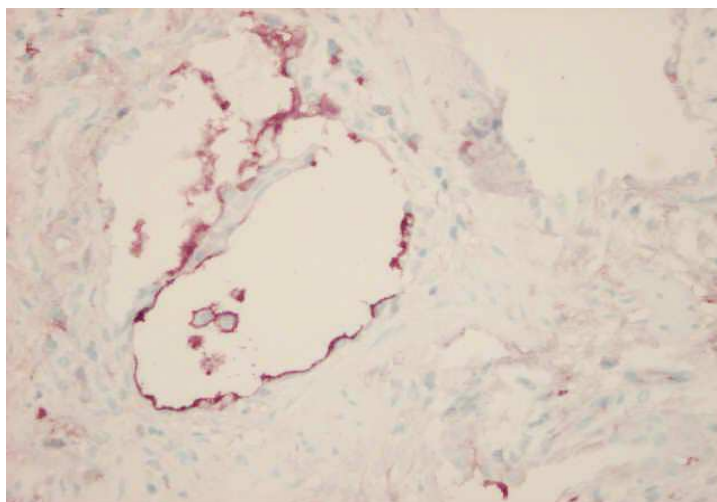
Minden betegben a kórkép diagnosztizálásakor, illetve állapotuktól függően félévente, évente készült mellkas röntgenfelvétel és légzésfunkció. A 280 betegből 132 esetben észleltünk a kórlefolyás során ILB-t. Az ILB-ben szenvedő betegek szérumában az antiszintetáz szindrómára jellemző anti-Jo1 antitesteket nem tudtuk kimutatni.

Az interstitialis pneumonitis 84 betegben (63,6 %) dyspnoe, 49 betegben (37,1 %) láz, köhögés, öt betegben (3,8 %) köhögés és vérköpés formájában jelentkezett. Összesen 16 olyan esetben végeztünk tüdőbiopsziát, amikor non-invazív módszerekkel tumor kizárása bizonytalan volt. A 16 biopsziás minta szövettani feldolgozása minden esetben nem-specifikus interstitialis pneumonitist igazolt a mononukleáris sejtek infiltrációjával a tüdőparenchymában (4. ábra). Immunhisztokémiai festéssel az alveolaris epitheliumban C3 komplement és IgM depozíció volt kimutatható (5. ábra).

4. ábra. ILB akut szakában végzett tüdőbiopsziás mintában mononukleáris sejtek infiltrációja látható a tüdőparenchymában:



5. ábra. ILB-ben immunhisztokémiai festéssel C3 komplement depozíció az alveoláris epitheliumban (40x):



Az 132 MCTD-s betegek életkora az ILB jelentkezéskor átlagosan $40,6 \pm 8,6$ év (28-71 év) volt, betegségük az ILB észlelésekor átlagosan $5,6 \pm 1,2$ éve (2-12 év) állt fenn. Hat betegben az MCTD fennállásának 2-4. évében, 91 betegben a követés 5-8. éve között, és 35 betegben az MCTD fennállásának 9-14. éve között észleltünk ILB-t **(4. táblázat)**. Az ILB jelentkezése és a betegek életkora között nem volt összefüggés, ugyanakkor az MCTD korai fázisában kezdődő ILB sokkal gyakrabban recidivált, mint a betegség 8-10 éves fennállása után jelentkező interstitialis tüdőbetegség.

4. táblázat. Interstitialis légzőszervi betegség előfordulása MCTD-s betegekben:

MCTD diagnózisától eltelt idő (évek)	ILB-s betegek száma 132 (%)	Recidivák száma
1-4 év	6 (4,5)	1-5
5-8 év	91 (68,9)	3-12
9-14	35 (26,5)	1-7

HRCT vizsgálattal az ILB akut szakában a legjellemzőbb elváltozás a dorsalis és basalis területek finom foltos homálya volt (77,2 %). Harminc betegben (22,7 %) az alveolitis mellett már kezdődő fibrózis jelei is mutatkoztak. Hat hónappal a kezelést követően a betegek 66,6 %-ában az eltérések teljesen regrediáltak, kezdődő fibrózis 14,4 %-ban, manifest fibrózis 18,1 %-ban volt észlelhető. Parenchyma pusztulással járó ún. lépesméztüdő mindössze 1 betegben (1,6 %) alakult ki. Négy évvel az első alveolitiszes szakot követően megismételve a HRCT vizsgálatot, fibrózis 21,2 %-ban alakult ki. Az interlobularis septumok megvastagodását és subpleuralis kötegezettséget 42 betegnél (31,8 %) lehetett látni. Az ILB pulmonalis hipertenzióval is társulhat. A 132 ILB-s betegből 9 esetben pulmonalis artériás hipertenzió súlyosbította a betegek állapotát.

Pulmonalis artériás hipertenzió MCTD-ben

Az 50 PAH-al társult MCTD-s betegnek már hetekkel a PAH diagnosztizálását megelőzően voltak panaszai: mind a 43 beteg tachycard (szívfrekvencia > 100/min) és dyspnoés volt, száraz köhécseletről 8 beteg panaszkodott, láz 11 esetben kísérte a fenti eltéréseket. A PAH észlelésekor a pulmonalis artériás nyomás 39-100 Hgmm között volt. A PAH-os betegek átlagos nyugalmi kisvérköri nyomása echokardiográfiával mérve 40-60 Hgmm közötti volt, amit 18 betegben jobb szívfél katéterezéssel is megerősítettünk. 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 szérum koncentrációban kimutatni. 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 jelenleg is élő 41 PAH-os MCTD-s betegben a

kezelést követő 8. héten a pulmonalis artériás nyomás szignifikánsan csökkent (MCTD-PAH kezelés előtt: $56,9 \pm 12,2$ Hgmm; kezelés után 2 hónappal: $38,1 \pm 8,4$ Hgmm; $p < 0,01$).

Veseérintettség 3,9 %-ban alakult ki a kórlefolyás során. 3 betegnél TTP/HUS okozta a microthrombusokat a veseartériákban, 8 betegben a proteinuria háttérében glomerulonephritis igazolódott. Az ISN class II osztályozást alapul véve a vesebiopszia 5 esetben mesangialis proliferatív GN-t, 3 esetben fokális nephritis szövettani eltéréseit mutatta.

Kardiális érintettség az MCTD diagnosztizálását követő 3. évben kezdődött. Harmincnolc betegben ischaemiás szívbetegséget, 8 betegben non-ischaemiás dilatatív cardiomyopathiát, 12 betegben mitralis vagy aorta billentyű betegséget, 40 betegben ingerképzeési- vagy vezetési zavart diagnosztizáltunk. Pacemaker implantáción 5 beteg esett át, két betegben intracardialis defibrillator beültetésre volt szükség.

A 280 MCTD-s betegből 72 betegnek volt **thrombosisa** a kórlefolyás során, anti-CL IgG antitest pozitivitással, ami kimerítette a secunder antifoszfolipid szindróma diagnosztikus kritériumát. A thrombotikus események az MCTD diagnosztizálását követően jelentkeztek. A secunder APS-s betegekben leggyakoribb volt a vénás thrombosisok előfordulása (81,9 %), 12,5 %-ban agyi ischaemiás történes, 5,5 %-ban alsó végtagi artériás elzáródás alakult ki.

Rosszindulatú daganatos betegséget 16 betegben találtunk a kórlefolyás során: 8 betegben gasztrointesztinális tumor, 2 betegben emlőrák, 2 betegben cervixrák, 2 betegben bronchuscarcinoma alakult ki. 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.

V.1.2. 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 IgG, IgA és IgM 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 (**3. táblázat**).

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 anti-CL IgM antitest jelenléte és a thrombosisok előfordulása között statisztikai összefüggést nem tudtunk kimutatni (RR: 0,08, 95 % CI: 0,003-2,1). Anti- β 2-GPI IgG és IgM antitestek szignifikáns korrelációt mutattak a thrombosisok jelenlétével MCTD-ben [anti- β 2-GPI IgG (RR: 22,4, 95 % CI: 1,20-417,9), anti- β 2-GPI IgM (RR: 23,3, 95 % CI: 1,06-512,0)].

Az endothelsejt elleni antitestek és az anti-CL IgG jelenlétében nagyobb valószínűsége volt a PAH kialakulásának, mint az antitestek jelenléte nélkül (endothelsejt elleni antitest-PAH: RR: 56,43, 95 % CI: 19,8-160,8; anti-CL IgG – PAH: RR: 3,67, 95 % CI: 1,61-8,3). Az anti- β 2-GPI IgG, IgA vagy IgM antitestek és a PAH között nem találtunk szignifikáns összefüggést (RR: 0,35, 95 % CI: 0,10-1,1).

V.1.3. Halálokok MCTD-ben

Az 1979 és 2011 közötti követési idő alatt a 280 MCTD-s betegből 22 beteget veszítettünk el. A halálokokat az **5. táblázatban** foglaltuk össze.

5. táblázat. Halálokok a 22 meghalt MCTD-s betegben:

	Betegszám (%)	MCTD követési idő (év)
MCTD szervi manifesztációja:	12 (54,5 %)	
• PAH	9 (40,9 %)	17,9,15,14,16,8,17,16,19
• TTP/HUS	3 (13,6 %)	3,13,1
Egyéb halálokok:	10 (45,4 %)	
• Infekciók	3 (13,6 %)	8,12,15
• Akut cardiovascularis esemény	7 (31,8 %)	10,4,6,15,3,12,26

MCTD-s betegekben a legfőbb komplikációt a pulmonalis artériás hipertenzió jelentette. Az időben elkezdett terápia ellenére 9 beteg halálát PAH okozta. A meghalt betegekben a PAH az agresszív terápia ellenére gyorsan progrediált. Ezen betegekben az echokardiográfiás mérések 60 Hgmm feletti kisvérköri nyomást mutattak, melyet jobb szívfél katéterezéssel is megerősítettünk. 3 betegben nyitott tüdőbiopszia során nyert szövettan, két betegben a szekciós lelet szövettani feldolgozásakor igazolódott a pulmonalis arteriolákat érintő proliferatív vasculopathia.

Három beteg TTP/HUS következtében exitált. MCTD-ben a TTP ritka manifesztáció. Egy betegben friss cytomegalovírus infekció provokálta a TTP-t. A betegek állapota steroid 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.

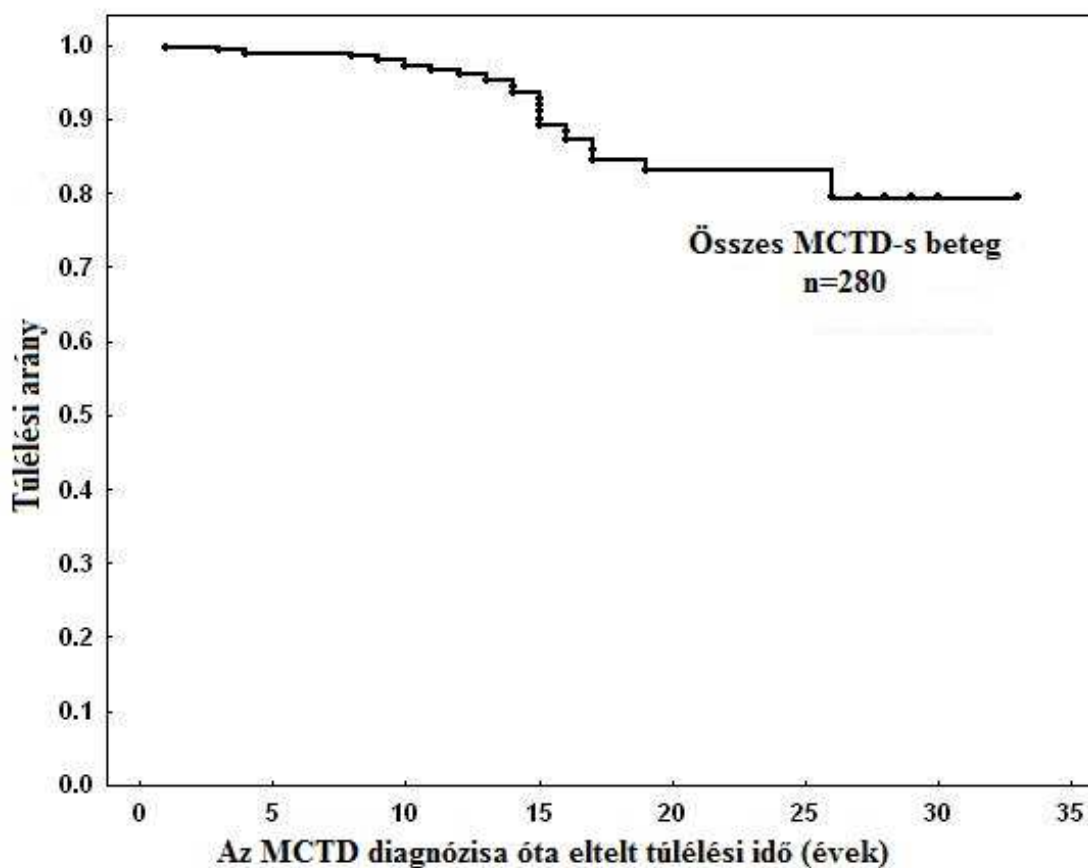
Három beteg infekcióban halt meg. Két betegben hepatitis C vírus infekció diagnosztizálását követően 12 és 15 évvel alakult ki májelégtelenség, mely halálhoz vezetett. Egy beteg Staphylococcus sepsisben exitált.

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

V.1.4. Klinikai tünetek hatása az MCTD-s betegek túlélésére

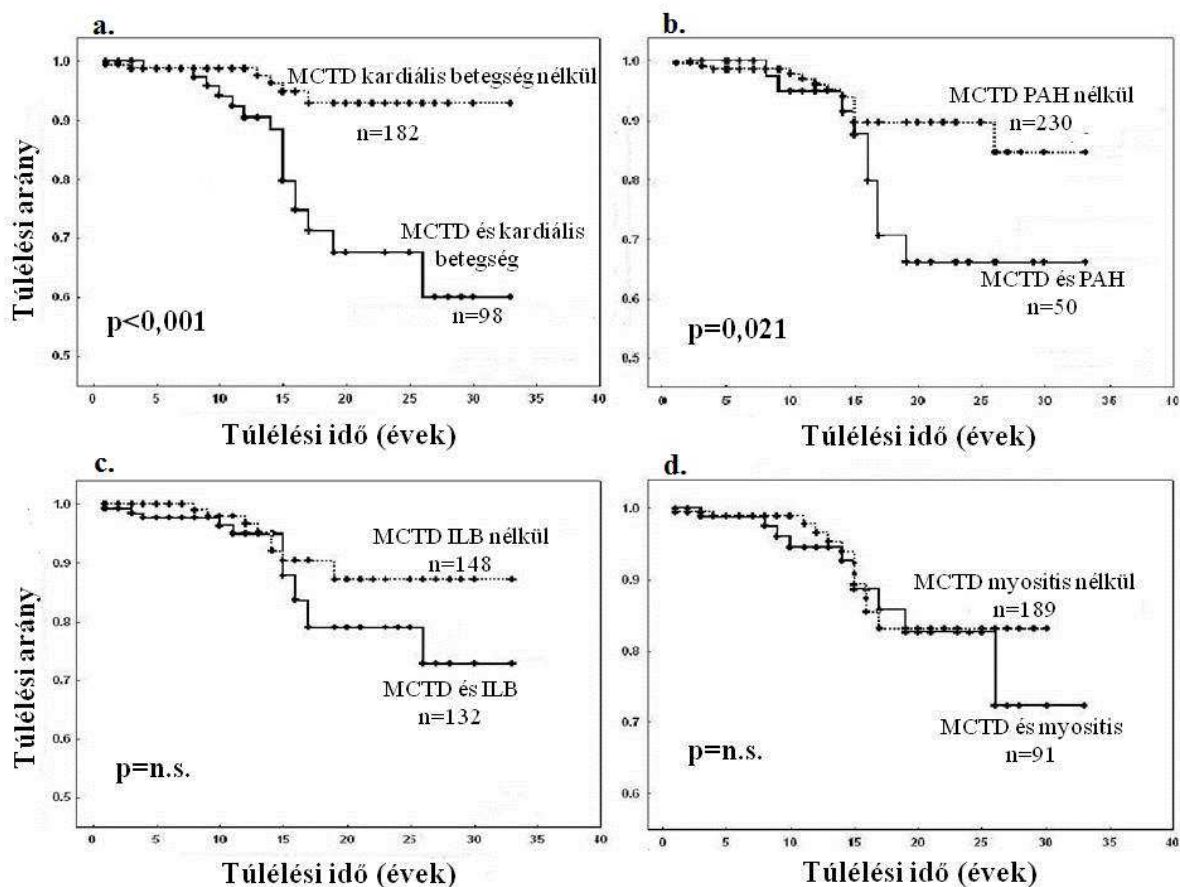
A 280 MCTD-s beteg 5 éves túlélése 98 %,10 éves túlélése 96 %, 15 éves túlélése 88 %. A 280 beteg Kaplan-Meier túlélési görbáját a **6. ábra** mutatja be.

6. ábra. A 280 MCTD-s beteg túlélési görbéje:



A 280 MCTD-s betegből 22 beteg (7,8 %) halt meg (9 nő, 3 férfi) az átlagosan 12,3 éves követési időszakban. Kedvezőtlen prognosztikus faktort jelentett a cardiovascularis betegség (7./a. ábra), a pulmonalis artériás hipertenzió (7./b. ábra), míg az intersticialis tüdőbetegség, myositis lezajlása nem rontotta szignifikánsan a betegek túlélésének valószínűségét (7./c-d. ábra).

7. ábra. Klinikai tünetek hatása az MCTD-s betegek hosszú távú túlélésére:



A követési idő alatt meghalt betegek valamint az élő MCTD-s betegek klinikai tüneteit és autoantitestjeit univariáns analízis segítségével hasonlítottuk össze (6. táblázat).

Az MCTD-ben meghalt betegekben fiatalabb életkorban diagnosztizáltuk az 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) előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt a meghalt betegekben, és jelenlétük nagyobb rizikót jelentett a halálra. 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.

6. táblázat. Klinikai tünetek és autoantitestek hatása a túlélésre MCTD-ben:

Klinikai jellemzők	Élő betegek n=258 (%)	Meghalt betegek n=22 (%)	p	95 % CI	RR
Kor a diagnóziskor (év)	41,8±10,7	35,5±10,4	0,03		
Követési idő (év)	13,2±7,6	12,3±7,5	0,835		
Polyarthrit	192 (74,4)	15 (68,2)	0,612	0,2878-1,886	0,736
Raynaud jelenség	151 (58,8)	10 (45,5)	0,265	0,2461-1,417	0,5905
PAH	41 (15,8)	9 (40,9)	0,0071	1,47-9,133	3,664
Myositis	81 (31,4)	10 (45,5)	0,234	0,7556-4,389	1,821
ILB	124 (48,1)	8 (36,4)	0,3750	0,2504-1,523	0,6175
Serositis	69 (26,7)	14 (63,6)	<0,001	1,926-11,927	4,793
Nyelőcső motilitászavar	133 (51,6)	6 (27,3)	0,04	1,076- 7,483	2,837
Kp.-i idegrendszeri tünet	52 (20,2)	4 (18,2)	1,0	0,2856-2,713	0,8803
Sclerodactylia	102 (39,5)	15 (68,2)	0,8226	0,3544-2,040	0,8503
Bőrtünetek	95 (36,8)	7 (31,8)	0,8181	0,3152-2,034	0,800
Veseérintettség	8 (3,1)	3 (13,6)	0,04	1,208-20,147	4,934
Cardiovascularis esemény	84 (32,6)	14 (63,6)	<0,0001	1,463-8,979	3,625
Rosszindulatú tumor	10 (3,9)	6 (27,3)	<0,001	2,999-28,837	9,3
APS	62 (24,0)	10 (45,5)	0,039	1,085-6,394	2,634
Endothelsejt elleni antitest	78 (30,2)	16 (72,7)	0,002	2,30-16,321	6,154
Anti-CL IgG/IgM/IgA	85 (32,9)	13 (59,1)	0,0190	1,209-7,151	2,94
Nagy dózisú KS kezelés ¹	201	18	0,783	0,2549-2,409	0,783
Kezelés citosztatikummal ²	190	19	0,305	0,1265-1,538	0,4412
Kezelés anti-TNF- α -val	42	0	-	-	-

¹ ≥ 1 mg/kg/nap methylprednisolon

² methotrexát, cyclophosphamid vagy azathioprin

V.1.5. Terápia MCTD-ben

MCTD-ben nincsenek nagy, randomizált klinikai vizsgálatok, az MCTD-s betegek kezelése a szervi tünetektől és a betegség aktivitásától függ.

A hosszú távú követési idő alatt minden MCTD-s betegünk részesült kortikoszteroid (KS) terápiában.

A betegekben alkalmazott immunszuppresszív terápiát a **7. táblázatban** foglaltuk össze. A kezelés minden betegben perszonalizált, vagyis a betegségre szükséges gyógyszer, annak adagja, a terápia tartama függött a tünetek súlyosságától, a beteg állapotától.

Bőrtünetek észlelésekor KS-ot és antimaláriás készítményt használtunk.

Arthritis fellángolása esetén 0,25 mg/ttkg KS készítményt, antimaláriás szert vagy methotrexátot (MTX) alkalmaztunk. Negyvennégy betegnek volt erozív arthritise. Methotrexát önmagában (15-20 mg/hét) vagy TNF- α gátlók adásával kombinálva bizonyult a leghatékonyabbnak aktív arthritisben.

Pleuritis, serositis napi 15-20 mg KS kezelésre jó terápiás választ adott.

Tüdőérintettség esetén a betegek komplex terápiát igényeltek. Interstitialis légzőszervi betegségben nagy dózisú KS (≥ 1 mg/kg), gyakran KS lökéskezelés (1g/nap 3 napig) alkalmazására volt szükség, cyclophosphamiddal (CYC) vagy mycophenolat mofetillel kombinálva. Pulmonalis artériás hipertenzió jelentkezésekor nagy dózisú KS-ot (≥ 1 mg/kg), pulzus KS kezelést és immunszuppresszív szerek (cyclophosphamid, azathioprin) kombinációját alkalmaztuk. Emellett a súlyosabb esetekben prostacyclin készítmények, endothelin receptor gátló szerek, foszfodiészteráz-5 inhibitor és alacsony molekulásúlyú heparin adására is szükség volt.

Glomerulonephritisben napi 15-20 mg KS mellett 3 hetente 400 mg CYC kezelést alkalmaztunk 5 alkalommal.

Myositis jelentkezésekor a betegek KS igénye napi 1-2 mg/ttkg volt, súlyos esetekben 3 hetente 5 alkalommal adott CYC-dal kellett kiegészíteni a kezelést. Intravénás immunglobulin (IVIG) terápiát 2 betegnek tudtunk biztosítani.

A követési idő alatt összesen a betegek 66,4 %-a kapott cyclophosphamidot, 16,4 % methotrexát és 2,1 % azathioprin terápiát.

Magas dózisú KS kezelés és az immunszuppresszív terápia nem befolyásolta a betegek túlélését (**6.táblázat**).

7. táblázat. Immunszuppresszív terápia a 280 MCTD-s betegben:

Klinikai tünetek	Terápia
Bőrtünetek (n=102)	KS és antimaláriás szerek
Arthritis (n=207)	Antimaláriás szerek, alacsony dózisú KS (methylprednisolon ≤ 20 mg/nap), MTX
Erozív arthritis (n=44)	MTX, biológiai terápia, mint TNF- α gátló szerek
Serositis (n=83)	0,25-1 mg/kg KS
Tüdőérintettség:	
ILB (n=132)	nagy dózisú KS (≥ 1 mg/kg), gyakran KS lökésterápia (1g/nap 3 napig) és CYC vagy MMF
PAH (n=50)	nagy dózisú KS (≥ 1 mg/kg), gyakran KS lökésterápia (1g/nap 3 napig), CYC, továbbá: prosztanoidok, endothelin receptor antagonisták, foszfodiészteráz-5 inhibitor és antikoaguláns kezelés (LMWH)
Veseérintettség (n=8)	KS (0,25-1,0 mg/nap), CYC
Myositis (n=91)	KS (0,5-1 mg/kg). Egyes esetekben CYC vagy IVIG, azathioprin

V.2. FENOTÍPUSOK VIZSGÁLATA MCTD-BEN

Az elmúlt évek vizsgálatai egyértelműen igazolták Sharp és mtsai 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. Az eltérő fenotípus sajátosságok pontos megértéséhez tudnunk kellene a betegség pontos patomechanizmusát. A vascularis tünetekkel járó MCTD-s betegekben sem azonos a PAH vagy a Raynaud jelenség kialakulásának mechanizmusa. Sajnos az elméleti immunológia még nem adott egyértelmű magyarázatot MCTD-ben vagy más szisztémás autoimmun betegségben, mint például SLE-ben a fenotípus sajátosság megértéséhez. Így a klinikai immunológusnak a tünettán, az autoantitestek típusa, és a betegek követése alapján lehet az egyes csoportokba tartozást értékelni. Mindez azért fontos, mert a fenotípus sajátosságok eltérő módon befolyásolják a kórlefolyást, a terápiát, és a betegek túlélésének valószínűségét.

MCTD-ben a fenotípus vizsgálathoz 1979 óta gondozott 201 (190 nő és 11 férfi) magyar MCTD-s beteg adatait dolgoztuk fel. A klaszter analízissel a vizsgált 201 MCTD-s beteg 3 alcsoportra volt osztható a megadott paraméterek alapján. Az MCTD klasszifikációs kritériumának megfelelően minden beteg szérumában a kórlefolyás során U1-RNP ellen termelődött autoantitest volt jelen. Öt klinikai paraméter (Raynaud jelenség, pulmonalis artériás hipertenzió, myositis, interstitialis légzőszervi eltérés, erozív arthritis) és 3 autoantitest (endothelsejt elleni antitest, anti-CCP, anti-cardiolipin) alapján végeztük az analízist.

Az 1-es csoportban előtérben álltak a magas anti-U1-RNP szinttel járó vascularis eltérések, a 2-es csoportban az ILB, myositis és nyelőcső motilitászavar, a 3-as csoportba az erozív arthritis tüneteivel járó MCTD-s betegcsoport került.

Az 1-es csoportba 77 beteg, a 2-es csoportba 79 beteg, míg a 3-as csoportba 45 beteg került (**8. táblázat**).

8. táblázat. Fenotípus sajátosságok MCTD-s betegek klaszter analízisével.

A klinikai tünetek és autoantitestek összehasonlítása az MCTD csoportokban.

	1-es csoport n=77 (%)	2-es csoport n=79 (%)	3-as csoport n=45 (%)	Összes beteg n=201	p
Életkor a vizsgálatkor (év)	50,8±12,7	55,1±9,7	56,1±14,7	52,9±12,4	<0,001
Követési idő (év)	15,5±11,4	14,2±8,2	14,5±8,0	14,9±7,2	
Jellemzők					
Polyarthrititis erózió nélkül	74 (93,5)	71 (89,8)	2 (4,4) ^{xx}	147 (73,1)	<0,001
Polyarthrititis erózióval	2 (2,5)	1 (12,6)	42 (93,3) ^{xx}	45 (22,3)	<0,001
Kézhat-, ujjduzzanat	67 (87,0) ^x	55 (69,6)	34 (75,5)	156 (77,6)	0,0313
Raynaud jelenség	71 (92,2) ^x	53 (67,0)	34 (75,5)	158 (78,6)	<0,001
Pulmonalis hipertenzió	43 (55,8) ^{xx}	4 (5,0)	1 (2,2)	48 (23,8)	<0,001
Myositis	28 (36,3)	61 (77,2) ^{xx}	11 (24,4)	100 (49,7)	<0,001
Interstitialis tüdőbetegség	17 (22,0)	78 (98,7) ^{xx}	15 (33,3)	110 (54,7)	<0,001
Pleuritis	8 (10,3)	16 (20,2)	4 (8,8)	28 (13,9)	0,1678
Pericarditis	12 (15,5)	14 (17,7)	18 (40,0) ^{xx}	44 (21,8)	<0,001
Sclerodactylia	41 (53,2)	32 (40,5)	38 (84,4) ^{xx}	111 (55,2)	0,01
Nyelőcső moilitászavar	42 (54,5)	71 (89,8) ^{xx}	26 (57,7)	139 (69,1)	<0,001
Secunder APS:	39 (50,6) ^{xx}	17 (21,5)	9 (20,0)	65 (32,3)	<0,001
Arteriás thrombosis	8 (10,3)	4 (5,0)	1 (2,2)	13 (6,4)	
Venás thrombosis	25 (32,4) ^x	10 (12,6)	5 (11,1)	40 (19,9)	
Cerebralis vascularis történés	6 (7,7)	3 (3,7)	3 (6,6)	12 (5,9)	
Fotoszenzitivitás	19 (24,6)	8 (10,1)	19 (42,2) ^{xx}	46 (22,8)	0,01
Livedo reticularis	19 (24,6) ^{xx}	7 (8,8)	4 (8,8)	30 (14,9)	<0,001
Malar rash	19 (24,6)	10 (12,6)	11 (24,4)	40 (19,9)	0,1124
Anti-CL IgG/IgM	56 (72,7) ^{xx}	19 (24,0)	15 (33,3)	90 (44,7)	0,0131
IgM RF	21 (27,2)	22 (28,5)	22 (48,5) ^x	65 (32,3)	0,0265
Anti-CCP	4 (5,2)	2 (2,5)	31 (68,8) ^{xx}	65 (32,3)	<0,001
Meghalt betegek	11 (14,2) ^{xx}	2 (2,5)	3 (6,6)	16 (7,9)	0,0216

^x és ^{xx}= az értékek szignifikánsan eltérnek a két másik csoporttól ; ^x= p<0,01, ^{xx}= p<0,001

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 secunder 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.

Az 1-es és a 2-es csoportban a cyclophosphamid, míg a 3-s csoportban a methotrexát bizonyult a leghatásosabb kezelésnek. A 3-as csoportban a methotrexát mellett a TNF- α gátló kezelés volt a legalkalmasabb kombináció a gyulladásos synovitis csökkentésére.

Az MCTD-s betegekben a szervi károsodás mértékét a **9. táblázatban** tüntettük fel. Az 1-es csoportra az emelkedett (>30 Hgmm) pulmonalis artériás nyomás ($p < 0,001$), a vénás thrombosisok ($p < 0,01$), a cerebrovascularis betegségek ($p < 0,001$) gyakoribb előfordulása jellemző. A 110 ILB-vel szövődött betegből a kezelést követően légzésfunkciós paraméterek csökkenése, pulmonalis fibrózis 28 betegben alakult ki. A súlyos synovitisek, és az osteoporoticus törések gyakoribbak voltak a 3-as csoportban az 1-es és a 2-es csoportba tartozó betegekhez viszonyítva ($p < 0,001$).

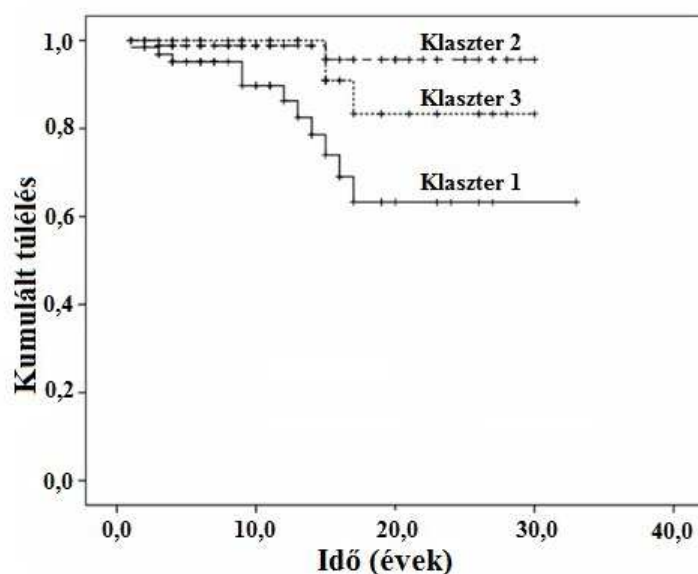
9. táblázat. Szervi károsodások a 3 MCTD csoportban:

	1-es csoport n=77 (%)	2-es csoport n=79 (%)	3-as csoport n=45 (%)	p
Cataracta	19 (24,6)	21 (26,5)	13 (28,8)	0,8854
Retinális elváltozás	5 (6,4)	7 (8,8)	6 (13,3)	0,4424
Kognitív funkciózavar	9 (11,6)	8 (10,1)	3 (6,6)	0,6690
Epileptiform rosszulletek	2 (2,5)	0	0	
Cerebrovasculais károsodás	34 (44,1)	8 (10,1)	7 (15,5)	<0,001
Perifériás neuropathia	25 (32,4)	32 (40,5)	9 (20,0) ^x	0,0648
Csökkent GFR (<50 %)	4 (5,1)	7 (8,8)	3 (6,6)	0,6648
Proteinuria (>3,5 mg/nap)	0	0	0	-
Pulmonalis hipertenzió	33 (42,8) ^{xx}	4 (5,0)	1 (2,2)	<0,001
Tüdőfibrozis	4 (5,1)	21 (26,5) ^{xx}	3 (6,6)	<0,001
Pleurális fibrózis	7 (9,0)	13 (16,4)	7 (15,5)	0,0147
Angina	34 (44,1)	19 (24,0) ^{xx}	19 (42,2)	0,0267
Myocardialis infarctus	9 (11,6)	8 (10,1)	8 (17,7)	0,4481
Szívbillentyű károsodás	12 (15,5)	10 (12,6)	5 (11,1)	0,489
Pericarditis	12 (15,5)	9 (11,3)	15 (33,3) ^{xx}	<0,001
Vénás thrombosis	25 (32,4) ^{xx}	10 (12,6)	5 (11,1)	0,01
Gastrointestinalis károsodás	43 (55,8)	40 (50,6)	31 (68,8)	0,1401
Musculosceletalis károsodás	21 (27,2) ^{xx}	32 (40,5)	41 (91,1)	0,01
Osteoporotikus törések	11 (14,2)	13 (16,4)	14 (31,1) ^{xx}	<0,001
Bőrgyógyászati károsodás	32 (41,5)	23 (29,1)	26 (57,7)	0,567
Diabetes mellitus	3 (3,8)	1 (1,2)	-	
Rosszindulatú daganat	8 (10,3)	1 (3,8)	7 (15,5) ^{xx}	0,01

^x= az értékek szignifikánsan eltérnek a másik két csoporttól ; ^x= p<0,01, ^{xx}= p<0,001

A követési idő alatt megvizsgáltuk a 3 alcsoport kumulált túlélését (**8. ábra, 10. táblázat**). A dominálónan vascularis eltérésekkel rendelkező 1. klaszter túlélése szignifikánsan rosszabb volt a másik két klaszterhez képest.

8. ábra. A 3 MCTD-s alcsoport kumulált túlélése az MCTD diagnózist követően:



10. táblázat. Élő betegek száma klaszterekre lebontva a diagnózist követő években:

Élő betegek száma a diagnózist követő években						
Évek	0. év	5. év	10. év	15. év	20. év	25. év
1. klaszter	77	74	72	68	66	66
2. klaszter	79	78	78	77	77	77
3. klaszter	45	45	45	43	42	42

Összegezve a klaszter analízissel végzett vizsgálataink hozzásegítettek minket abban, 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 vascularis eltéréseket, mint a PAH, míg az anti-U1-RNP és az anti-CCP antitest fontos faktor lehet az erozív arthritis kialakulásában. Az immunkomplex képződés és a komplement komponensek jelenléte összefügg az ILB-vel és a myositissal MCTD-ben. Eredményeik alapján az autoantitest profil és a klinikai tünettan MCTD-ben segít azonosítani a prognosztikus faktorokat, jelzi a betegség fellángolását, fontos szerepe van a mortalitás és a túlélés valószínűségének megítélésében. Megfigyelésünk és véleményünk, hogy a klaszter analízis segít a korai terápia megválasztásában is, ezáltal elősegíti a betegek jobb életminőségét és a betegség kedvezőbb kimenetelét is.

V.3. IMMUNMEDIÁLTA HALLÁSCSÖKKENÉS MCTD-BEN

A poliszisztémás autoimmun betegségeknek egyik szervi manifesztációja lehet a belső fül érintettsége, mely sensorineuralis halláscsökkenésben (SNHCS) és egyensúlyzavarban nyilvánulhat meg.

A sensorineuralis halláscsökkenést a belső fülben elhelyezkedő cochlea szőrsejtjeit és/vagy a VIII. agyideg, a n. acusticus hallóidegrostját érintő rendellenesség okozza. Kialakulásának számos oka lehet, hirtelen kialakuló sensorineuralis halláscsökkenéshez vezet az acusticus trauma, acusticus neurinoma, vírusfertőzések, míg lassúbb, hónapok, évek alatt fokozódó hallásvesztést provokálhatnak az ototoxicus szerek, a belső fül vérellátási zavarai, anyagcsere betegségek, genetikai betegség, zajártalom és a természetes öregedési folyamat. Sensorineuralis halláscsökkenést okozhatnak az immunmediálta kórfolyamatok. Az immunmediálta SNHCS az összes halláscsökkenésnek mintegy 1%-át teszi ki, de valószínűleg nem minden eset kerül felismerésre. Az immunmediálta SNHCS-nek két típusát különböztetik el: a primer és a secunder formát. A primer immunmediálta SNHCS szervspecifikus 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, ahol a belső fül érintettsége a szisztémás autoimmun betegség egyik szervi manifesztációja, melynek halláscsökkenés a következménye. Ritkán a hallásvesztés az első tünete lehet a szisztémás autoimmun betegségnek.

Az immunmediálta SNHCS előfordulásáról kevert kötőszöveti betegségben még 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 sensorineuralis halláscsökkenés gyakoriságát, majd a sensorineuralis halláscsökkenéssel járó MCTD-s betegek klinikai jellemzőit és immunszerológiai sajátosságait vizsgáltuk.

A vizsgált 69 nő és 2 férfibeteg átlagos 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.

A vizsgálatba került MCTD-s betegek leggyakoribb klinikai tünete a polyarthrititis volt (63 beteg, 88,7 %). Raynaud jelenséget 39 betegben (54,9 %), myositist 20 betegben (28,1 %) észleltünk. Nyelőcső motilitászavart 35 esetben (49,2 %) tudtunk igazolni, pulmonalis artériás hipertenzió 11 betegben (15,4 %), serositis 20 esetben (28,1 %) szerepelt a betegek kórelőzményében. Secunder Sjögren szindróma 17 esetben (23,9 %) társult az MCTD-hez. A 71 MCTD-s betegből 16 betegnek (22,5 %) volt előzetes thrombotikus eseménye, és a szérumban levő antifoszfolipid antitestek alapján secunder APS-t vélelmeztünk.

A felméréskor 18 beteg nem szteroid gyulladásgátló szert, 23 beteg kortikoszteroidot (KS; 10-20 mg/nap), 9 beteg 20-30 mg/nap KS-ot és napi 100 mg cyclophosphamidot, 21 beteg 10-15 mg/nap KS-ot és heti 10,0 mg methotrexát (MTX) kezelést kapott.

Sensorineuralis 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.).

A felméréskor a halláscsökkenéssel járó 33 MCTD-s betegből 13 (39,4 %), a 38 halláscsökkenés nélküli MCTD-s betegből 17 (44,7 %) kapott KS és citosztatikus (cyclophosphamid vagy MTX) kezelést. Nem volt szignifikáns különbség a citosztatikus kezelésben részesülő SNHCS-sel járó és a SNHCS nélküli MCTD-s betegek között ($p = 0,81$).

A **11. táblázatban** a sensorineuralis halláscsökkenéssel járó 33 MCTD-s beteg és a 38 halláscsökkenés nélküli MCTD-s beteg szérumában észlelt antitesteket tüntettük fel a vizsgálatkor.

11. táblázat: A sensorineuralis halláscsökkenéssel járó és a halláscsökkenés nélküli MCTD-s betegek autoantitestjei a felméréskor:

MCTD-s betegek	SNHCS van n=33 (46,5%)	SNHCS nincs n=38 (53,5%)	p érték
Anti-U1-RNP (norm.: < 5U/ml)	19,3±10,2	13,8±11,3	0,05
Endothelsejt elleni antitest (n: < 35 U/ml)	41,2±31,8	23,9±19,0	0,001
Anti-SSA (norm.: < 10 U/ml)	15,0±29,4	12,4±22,0	0,666
Anti-SSB (norm.: < 10 U/ml)	7,9±9,0	5,3±5,3	0,139
Anti-CL IgG (norm.: < 22 U/ml)	19,9±25,2	9,4 ±12,9	0,03
Anti-CL IgA (norm.: < 5 U/ml)	3,1±2,7	3,4±2,2	0,607
Anti-CL IgM (norm.: < 16 U/ml)	7,4±14,1	3,4±2,4	0,09

A felméréskor az anti-U1-RNP autoantitestek szérumszintje magasabb volt a sensorineuralis halláscsökkenéssel járó MCTD-s betegekben (MCTD-SNHCS: 19,3±10,2 U/ml, MCTD-SNHCS nélkül: 13,8±11,3 U/ml; $p<0,05$). Ugyancsak jelentős különbség volt az endothelsejt elleni antitestek szérumkoncentrációjában a sensorineuralis halláscsökkenéssel járó és a halláscsökkenés nélküli betegekben (MCTD-SNHCS: 41,2±31,8 U/ml, MCTD-SNHCS nélkül: 23,9±19,0 U/ml; $p<0,001$). A foszfolipid struktúrák ellen termelődő autoantitestek közül anti-CL IgG szérumszint emelkedését észleltük (MCTD-SNHCS: 19,9±25,2 U/ml, MCTD-SNHCS nélkül: 9,4±12,9 U/ml; $p<0,03$). Az MCTD-s betegek szérumában kimutatható autoantitestek közül az anti-SSA, anti-SSB, az IgA és IgM izotípusú anti-CL szérumszintben nem találtunk statisztikai különbséget a sensorineuralis halláscsökkenéssel járó és a halláscsökkenés nélküli MCTD-s betegek között.

Univariáns analízissel MCTD-ben sensorineuralis halláscsökkenésre hajlamosító tünet volt a Raynaud jelenség és a secunder APS (**12. táblázat**). A SNHCS-sel járó 33 MCTD-s betegből 11 esetben zajlott le thrombosis (artériás thrombosis: 3 beteg, vénás thrombosis: 4 beteg, cerebrális stroke: 4 beteg). Az MCTD-s betegek szérumában az anti-U1-RNP autoantitestek 10 U/ml feletti szérumkoncentrációja esetén, valamint az IgG izotípusú anti-CL jelenlétében nagyobb rizikója volt a sensorineuralis halláscsökkenés kialakulásának. Az

endothelsejt elleni antitestek ($p < 0,0001$) jelenlétében szignifikánsan nőtt a sensorineuralis halláscsökkenés kialakulásának az esélye.

12. táblázat: Sensorineuralis halláscsökkenés jelenléte és az MCTD-s betegek klinikai tünetei és autoantitestjei közötti összefüggés:

Klinikai tünetek	RR (95 % CI)	P érték
Polyarthrititis	2,083 (0,457-9,483)	0,4587
Raynaud jelenség	3,125 (1,128-8,659)	0,03
Myositis	1,086 (0,384-3,070)	1,0
Nyelőcső motilitászavar	0,847 (0,332-2,155)	0,813
Serositis	0,92 (0,325-2,601)	1,0
Interstitialis tüdőbetegség	0,937 (0,3374-2,602)	1,0
Pulmonalis artériás hipertenzió	0,681 (0,187-2,481)	0,741
Secunder Sjögren szindróma	1,031 (0,345-3,075)	1,0
Secunder APS	3,3 (1,007-10,816)	0,05
Autoantitestek	RR (95 % CI)	P érték
Anti-U1-RNP	2,683 (1,025-7,026)	0,05
Anti-CL IgG	2,945 (1,105-7,852)	0,03
Anti- β 2-GPI	1,167 (0,218-6,218)	1,0
Endothelsejt elleni antitest	8,750 (2,986-25,639)	0,0001
Anti-SSA	2,667 (0,858-8,284)	0,10
Anti-SSB	0,790 (0,225-2,778)	0,761
ANCA	1,167 (0,218-6,218)	1,0

Szérum citokinek és a CD4+ T-sejtek intracitoplazmatikus IFN- γ tartalma MCTD-ben:

MCTD-s betegekben szignifikánsan magasabb IFN- γ , TNF- α és IL-10 szérumszintet mértünk, mint a kontroll csoportban (13. táblázat).

13. táblázat: Szérum citokin szintek és a CD4+ T-sejtek IFN- γ tartalma a SNHCS-sel járó és a SNHCS nélküli MCTD-s betegekben:

Citokin szintek	Kontroll n=51	SNHCS van ^a n=33	SNHCS nincs ^b n=38	a-b	K-a	K-b
Szérum IFN- γ (pg/ml)	14,3 $\pm$ 16,2	51,8 $\pm$ 22,1	39,5 $\pm$ 32,0	0,05	0,001	0,001
Szérum TNF- α (pg/ml)	8,9 $\pm$ 4,8	34,7 $\pm$ 23,2	22,1 $\pm$ 14,7	0,05	0,001	0,001
Szérum IL-10 (pg/ml)	7,3 $\pm$ 8,7	26,5 $\pm$ 25,4	22,8 $\pm$ 24,9	ns	0,001	0,001
CD4+ T-sejtek ic. IFN- γ tartalma (%)	20,3 $\pm$ 4,2	39,8 $\pm$ 13,8	24,8 $\pm$ 9,7	0,01	0,001	ns

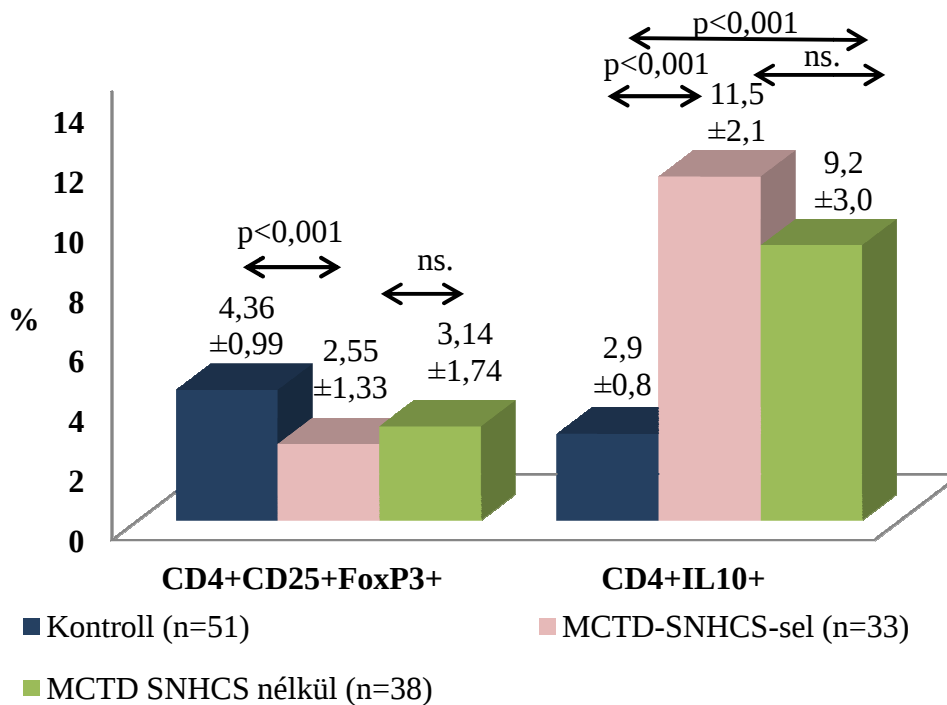
A halláscsökkenéssel járó MCTD-s betegekben az IFN- γ és a TNF- α szint magasabb volt, mint a halláscsökkenés nélküli MCTD-s betegekben (IFN- γ szint: MCTD-SNHCS: 51,8 $\pm$ 22,1 pg/ml, MCTD-SNHCS nélkül: 39,5 $\pm$ 32,0 pg/ml, $p < 0,05$; TNF- α : MCTD-SNHCS: 34,7 $\pm$ 23,2 pg/ml, MCTD-SNHCS nélkül: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

A sensorineuralis halláscsökkenéssel járó MCTD-s betegek CD4+ Th1 sejtjei fokozottabb mértékben tartalmazták az IFN- γ -t, mint a sensorineuralis halláscsökkenés nélküli MCTD-s betegek CD4+ T-sejtjei. Az sensorineuralis halláscsökkenés nélküli betegekben magasabb volt a CD4+ T-sejtek IFN- γ tartalma, mint a kontroll egyénekben, de a különbség nem volt szignifikáns.

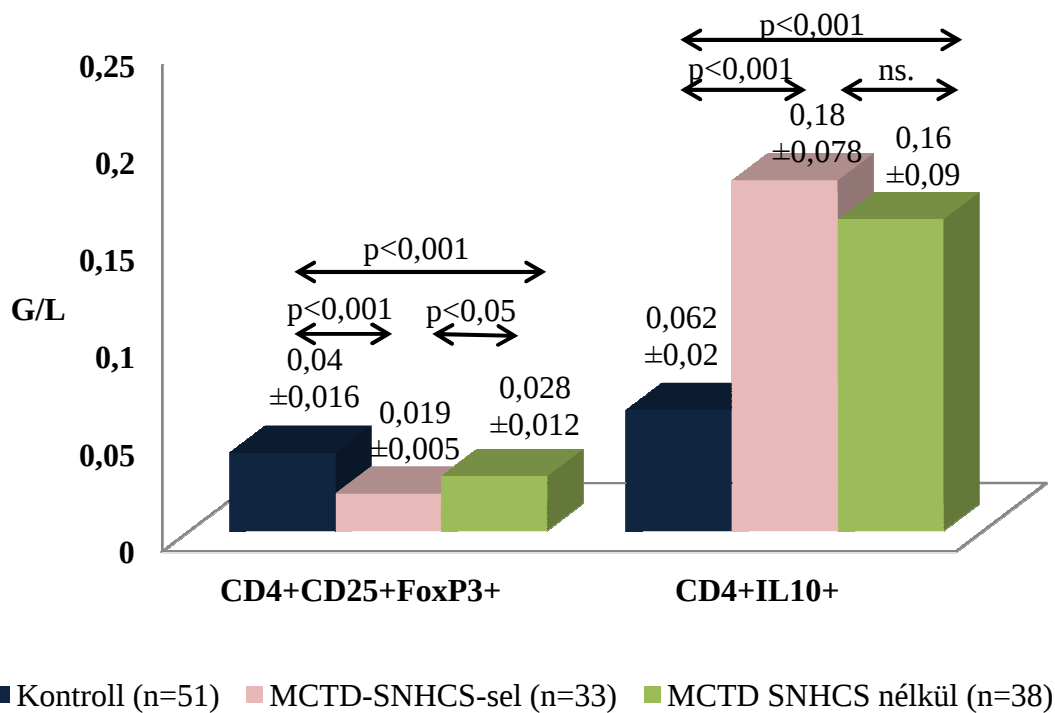
Regulatórikus T-sejtek

Az MCTD-s betegekben a CD4+CD25^{high}FoxP3+ T-sejtek százalékos megoszlása (a CD4+ T-sejtekhez viszonyítva) és abszolút száma alacsonyabb volt, mint a kontroll csoportban (9. és 10. ábra).

9. ábra: A CD4+CD25^{high}FoxP3+ természetes regulatórikus T sejtek, és az indukálható IL-10-et termelő regulatórikus T sejtek százalékos megoszlása:



10. ábra: A CD4+CD25^{high}FoxP3+ természetes regulatórikus T sejtek, és az indukálható IL-10-et termelő regulatórikus T sejtek abszolút száma:



Az MCTD-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±0,99 %, MCTD-SNHCS-sel^a: 2,55±1,33 %, MCTD-SNHCS nélkül^b: 3,14±1,74 %, K-a: p<0,001, K-b: p<0,05, a-b: ns.; abszolút érték: Kontroll: 0,04±0,016 G/l, MCTD-SNHCS-sel^a: 0,019±0,005 G/l, MCTD-SNHCS nélkül^b: 0,028±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+ Treg 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±0,8 %, MCTD-SNHCS-sel^a: 11,5±2,1 %, MCTD-SNHCS nélkül^b: 9,2±3,0 %, K-a: p<0,001, K-b: p<0,001, a-b: ns.; Kontroll: 0,062±0,02 G/l, MCTD-SNHCS-sel^a: 0,18±0,078 G/l, MCTD-SNHCS nélkül^b: 0,16±0,09 G/l, K-a: p<0,001, K-b: p<0,001, a-b: ns.).

V.4. D-VITAMIN HIÁNY ÉS CARDIOVASCULARIS RIZIKÓFAKTOROK

A D-vitamin a zsíroldékony vitaminok közé tartozik, klasszikus hatása az intestinális kalcium és foszfor felszívódás fokozása, azonban autokrin és parakrin módon számos egyéb hatást is kifejt. Az aktív D-vitamin befolyásolja az immunrendszer működését, szabályozza a CD4⁺ T-sejtek differenciálódását és aktivációját, gátolja a Th1 sejtek proinflammatorikus citokin termelését, gátolja a naív Th-sejtek Th17 effektor sejtek irányába történő differenciálódást. Az aktív D-vitamin elősegíti a Th2 típusú sejtek működését, és gátolja Th17 sejtek IL-17 citokin termelését. A dendritikus sejtek funkciójának befolyásolása révén a D-vitamin az immunrendszert a tolerogentiás irányába tolja el [135-137].

A D-vitamin hiányos állapotban egyértelműen nagyobb számos autoimmun kórkép, például a szisztémás lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis (RA), 1-es típusú diabetes mellitus (DM) prevalenciája és súlyossága [138-140]. SLE-ben a D-vitamin hiány a betegség aktivitását is fokozta [141]. A D-vitamin hiány és a cardiovascularis morbiditás és mortalitás közötti összefüggés is ismert. Az elégtelen D vitamin szint növeli a cardiovascularis rizikófaktorok előfordulását, mint a hipertenzió, dyslipidaemia, diabetes mellitus, obezitás [142-145]. Myocardialis infarctuson, stroke-on átesett betegekben alacsonyabb D-vitamin szinteket mértek [146-147].

Eddigi eredményeink alapján MCTD-ben endothel diszfunkció, cardiovascularis betegség magasabb előfordulását észleltük. MCTD-s betegekben a D-vitamin szint összefüggését a klinikai, immunszerológiai jellemzőkkel, a gyulladásos citokin szintekkel és cardiovascularis eseményekkel eddig még nem vizsgálták.

A jelen munkánkban célul tűztük ki az MCTD-s betegek D-vitamin státuszát felmérni, továbbá vizsgáltuk a D-vitamin szint és a klinikai tünetek, cardiovascularis betegség és labor paraméterek közötti kapcsolatot.

A vizsgálatba a DEOEC Belgyógyászati Intézet Klinikai Immunológiai Tanszékén követett összesen 125 MCTD-s nőbeteget 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 **13. táblázat** az MCTD-s betegek és kontrollok cardiovascularis rizikófaktorait, endothelsejt markereit és citokin szintjeit foglalja össze.

13. táblázat: Az MCTD-s betegek és kontrollok cardiovascularis rizikófaktorainak, antitesteknek és gyulladásos citokin szinteknek összehasonlítása:

Jellemzők	MCTD n=125	Kontroll n=48	t-teszt	
	átlag (SD)	átlag (SD)	p*	p**
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	139,76 (22,3)	128,54 (17,86)	0,001	0,038
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	86,56 (10,52)	88,33 (16,29)	0,486	<0,001
Testtömeg-index (kg/m ²)	28,22 (5,46)	24,85 (4,77)	0,002	0,159
Teljes koleszterin (mmol/l)	6,11 (1,17)	5,42 (1,02)	<0,001	0,240
Triglicerid (mmol/l)	1,88 (1,03)	1,58 (0,77)	0,055	0,015
LDL-C (mmol/l)	3,58 (0,98)	3,31 (0,83)	0,081	0,477
HDL-C (mmol/l)	1,64 (0,54)	1,76 (0,51)	0,218	0,980
ApoA1 (g/l)	1,44 (0,4)	1,72 (0,47)	0,001	0,144
ApoB (g/l)	0,96 (0,34)	0,91 (0,13)	0,265	0,015
Homocisztein (μmol/l)	15,2 (5,21)	8,11 (3,16)	<0,001	0,001
Intima media vastagság (mm)	0,65 (0,14)	0,58 (0,08)	0,001	0,037
hs-CRP (mg/l)	18,47 (14,81)	1,41 (1,03)	<0,001	<0,001
Fibrinogén (g/l)	4,18 (0,98)	2,99 (1,05)	<0,001	0,707
Anti-RNP (normál <10 U/ml)	21,24 (20,69)	4,95 (3,38)	<0,001	<0,001
Anti-CL IgG (normál <10 U/ml)	15,71 (18,49)	5,85 (3,08)	<0,001	<0,001
Anti-CL IgA (normál <10 U/ml)	3,56 (3,79)	3,16 (1,99)	0,589	0,354
Anti-CL IgM (normál <10 U/ml)	10,31 (21,86)	2,53 (1,68)	0,004	<0,001
AECA (normál <5U/ml)	29,94 (27,61)	17,24 (10,15)	0,001	<0,001
Thrombomodulin (ng/ml)	8,06 (9,34)	3,16 (1,36)	<0,001	<0,001
vWFAg (%)	210,38 (100,95)	107,43 (31,12)	<0,001	<0,001
Endothelin-1 (fmol/ml)	1,04 (1,15)	0,53 (0,66)	0,001	0,005
IL-6 (pg/ml)	26,49 (13,25)	10,00 (4,20)	<0,001	<0,001
IL-10 (pg/ml)	19,36 (12,73)	9,47 (2,89)	<0,001	0,005
IL-12 (pg/ml)	148,86 (47,30)	67,19 (19,59)	<0,001	0,001
IL-17 (pg/ml)	40,90 (9,52)	15,52 (5,27)	<0,001	0,006
IL-23 (pg/ml)	339,83 (131,59)	87,42 (29,74)	<0,001	<0,001
INF-γ (pg/ml)	33,4 (22,63)	13,57 (4,69)	<0,001	<0,001

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-koleszterin 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 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 (TM), a vWFAg és endothelin-1 (ET-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. Az eredményeket a **14. táblázatban** foglaltuk össze.

14. táblázat: A D-vitamin szint összefüggése az autoantitestekkel, endothelsejt markerekkel, cardiovascularis rizikófaktorokkal és betegség aktivitással MCTD-ben, Pearson korreláció és multivariáns lineáris regresszió alapján:

Változók	Átlag±SD	Pearson korreláció	p	Lineáris regresszió			
Anti-RNP (U/ml)	21,24±20,69	-0,246	0,022	-0,262	-0,154	0,215	0,132
Anti-CL IgG (U/ml)	15,71±18,49	-0,130	0,227	-0,265	-0,172	0,154	0,175
Anti-CL IgA (U/ml)	3,56±3,79	0,396	0,015	0,270	0,450	0,015	0,332
Anti-CL IgM (U/ml)	10,31±21,86	0,038	0,754	0,080	0,047	0,768	0,074
AECA (IU/ml)	29,94±27,61	-0,186	0,099	-0,441	-0,225	0,117	0,092
IL-6 (pg/ml)	26,49±13,25	-0,618	<0,001	-0,475	-0,554	<0,001	0,529
IL-10 (pg/ml)	19,36±12,73	-0,338	0,004	-0,301	-0,327	0,033	0,122
IL-12 (pg/ml)	148,86±47,30	-0,407	0,008	-0,730	-0,217	0,320	0,342
IL-17 (pg/ml)	40,90±9,52	-0,029	0,902	-0,549	-0,355	0,377	0,189
IL-23 (pg/ml)	339,83±131,59	-0,473	0,002	-5,055	-0,550	0,011	0,412
IFN- γ (pg/ml)	33,40±22,63	-0,196	0,076	-0,325	-0,199	0,167	0,102
TM (ng/ml)	8,06±9,34	-0,402	<0,001	-0,313	-0,473	0,001	0,252
vWFAg (%)	210,38±100,95	0,230	0,040	0,690	0,107	0,449	0,106
Endothelin (fmol/ml)	1,04±1,15	-0,181	0,072	-0,022	-0,251	0,033	0,139
IMT (mm)	0,65±0,14	-0,415	<0,001	-0,004	-0,371	<0,001	0,241
Szisztolés RR (Hgmm)	139,76±22,30	-0,106	0,239	-0,179	-0,104	0,307	0,130
Diasztolés RR (Hgmm)	86,56±10,52	0,018	0,841	0,004	0,005	0,962	0,059
Triglicerid (mmol/l)	1,88±1,03	-0,040	0,661	-0,004	-0,049	0,639	0,056
Koleszterin (mmol/l)	6,11±1,17	-0,204	0,022	-0,019	-0,212	0,042	0,099
LDL (mmol/l)	3,58±0,98	-0,184	0,040	-0,011	-0,152	0,146	0,077
HDL (mmol/l)	1,64±0,54	-0,038	0,670	-0,004	-0,106	0,307	0,091
ApoA1 (g/l)	1,44±0,40	0,399	<0,001	0,013	0,392	0,004	0,190
ApoB (g/l)	0,96±0,34	0,011	0,929	0,001	0,055	0,728	0,193
Homocisztein (μ mol/l)	15,20±5,21	-0,225	0,012	-0,084	-0,208	0,046	0,093
CRP (mg/l)	18,47±14,81	-0,179	0,085	-0,143	-0,132	0,260	0,219
Fibrinogén (g/l)	4,18±0,98	-0,263	0,036	-0,033	-0,418	0,010	0,188
SLAM score	5,46±2,63	-0,389	<0,001	-0,065	-0,324	0,001	0,199

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 citokoin szérumszintje magasabb volt MCTD-ben a kontrollhoz képest, de szintjük független volt a D-vitamin szinttől. Azonban az IL-23 ($p=0,011$), az IL-6 ($p<0,001$) és az IL-10 ($p=0,033$) citokinek szérumszintje 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 ($p=0,010$).

A szisztolés, diasztolés vérnyomás, a triglicerid, LDL, HDL ApoB szint, paraoxonáz aktivitás és CRP szint nem mutatott összefüggést a D-vitamin szinttel az MCTD-s betegekben.

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

A klinikai tüneteket univariáns statisztikai módszerrel elemezve (**15.táblázat**) az alacsony D-vitamin szint a pulmonalis artériás hipertenzióval ($p=0,038$), a sekunder antifoszfolipid szindrómával ($p=0,045$) és a cardiovascularis betegséggel ($p=0,002$) mutatott összefüggést. Multivariáns logisztikus regressziós analízissel a zavaró tényezőkre (életkor, testtömegindex, családi anamnézis, dohányzás, diabetes mellitus, menopausa, szérum glükóz szint) történő korrigálás után is a D-vitamin hiány és a cardiovascularis betegség előfordulása közötti összefüggés szignifikáns maradt ($p<0,001$) MCTD-ben.

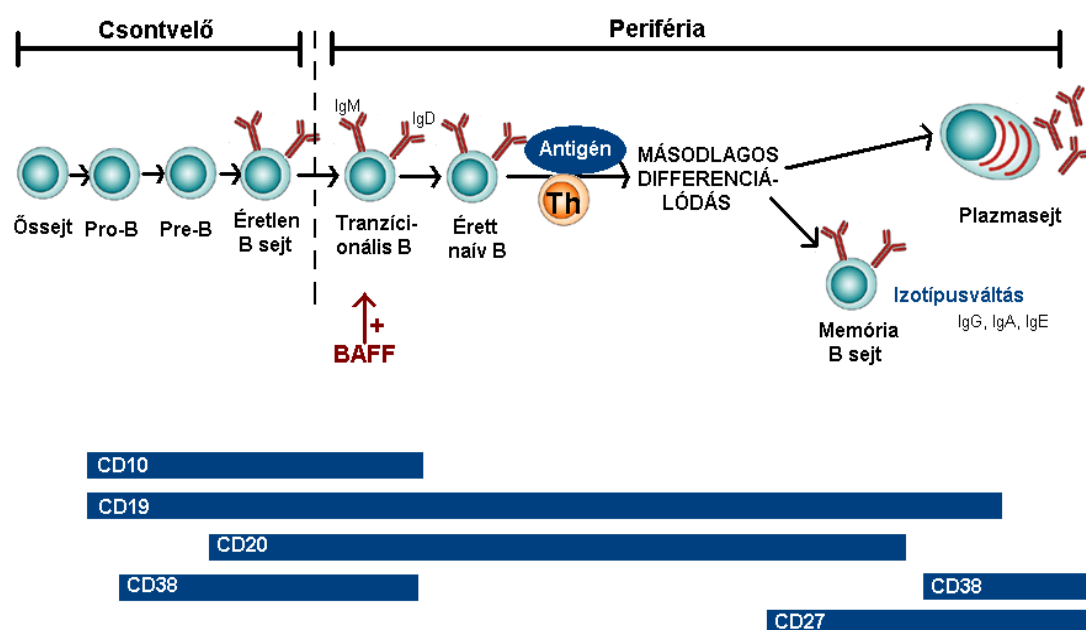
**15. táblázat: A D-vitamin szint és klinikai tünetek közötti összefüggés vizsgálata
univariáns és multivariáns logisztikus regresszióval:**

Klinikai tünetek	N (%)	Univariáns			Multivariáns**		
		OR [95 %CI]	p	r ² *	OR [95 %CI]	p	r ² *
Polyarthrit	104 (83,2)	0,97 [0,94-1,01]	0,126	0,03	0,96 [0,92-1]	0,062	0,177
Raynaud jelenség	86 (68,8)	1 [0,97-1,03]	0,880	<0,001	0,99 [0,96-1,03]	0,698	0,035
Myositis	71 (56,8)	1 [0,97-1,03]	0,950	<0,001	0,99 [0,96-1,03]	0,720	0,087
Duzzadt kezek	42 (33,6)	0,98 [0,95-1,01]	0,223	0,017	0,99 [0,96-1,03]	0,602	0,139
Nyelőcső motilitászavar	86 (68,8)	1 [0,97-1,03]	0,880	<0,001	1 [0,96-1,03]	0,874	0,047
Pericarditis	27 (21,6)	1 [0,96-1,03]	0,817	0,001	0,98 [0,94-1,02]	0,333	0,160
Fotoszenzitivitás	41 (32,8)	1,01 [0,98-1,04]	0,407	0,008	1 [0,97-1,03]	0,972	0,037
PAH	41 (32,8)	0,97 [0,94-1]	0,038	0,052	0,96 [0,93-1]	0,059	0,150
ILB	80 (64)	0,98 [0,95- 1,01]	0,133	0,025	0,98 [0,95-1,02]	0,347	0,048
Secunder APS	53 (42,4)	0,97 [0,94-1]	0,045	0,046	0,97 [0,94-1]	0,092	0,097
Cardiovascularis betegség	63 (50,4)	0,95 [0,92-0,98]	0,002	0,117	0,93 [0,9-0,97]	<0,001	0,283

V.5. B-SEJT ABNORMALITÁSOK MCTD-BEN

A B-sejt életpálya két fő szakaszra osztható. Az első szakasz, a centrális B-sejt fejlődés során a csontvelőben a csontvelői őssejtből kialakul a megfelelő spektrumú antigénreceptort hordozó B-sejt készlet. A differenciálódás során a B-sejtek az adott fejlődési stádiumnak megfelelő sejtfelszíni markereket hordozzák a felszínükön, ezáltal a különböző stádiumban lévő B-sejt alcsoportok elkülöníthetők (10. ábra).

10. ábra: B-sejt alcsoportok és sejtfelszíni CD markerek:



A csontvelőből a perifériára kikerülő B-sejt az úgynevezett tranzícionális B-sejt, mely sejtfelszíni markerei és funkcionális aktivitása alapján még nem teljesen érett sejtcsoport. Jellemzi a CD10, CD19, CD20, IgD, IgM pozitivitás és a CD38 erős expressziója. A tranzícionális B-sejt érését és túlélését a B-sejt aktiváló faktor (BAFF) segíti elő, melynek hiányában a folyamat blokkolódik. Az érés során képződött sejtcsoport a naív B-sejt, melyekre jellemző a felszíni IgD és IgM expresszió. A CD10 és CD38 már nincs rajta a felszínükön. A periférián a konvencionális B-sejtek antigén stimulus hatására helper T-sejtek jelenlétében tovább differenciálódnak, és különböző B-sejt származékok alakulnak ki: a stimulációt követően nyugvó állapotba visszakerülő memória B-sejt, mely az immunglobulingén termékét továbbra is transzmembrán receptor konfigurációban hordozza,

valamint a B-sejt differenciálódás terminális állapotát jelentő plazmasejt, mely az immunglobulint szekretált termékként állítja elő. A memória B-sejteket jellemzi a CD27 pozitivitás. A memória B-sejtek a felszínükön hordozzák az IgD-t, vagy az Ig nehézlánc izotípusváltás eredményeként IgD helyett más immunglobulin alosztályt expresszálnak. A plazmasejteket a CD27 és CD38 erős expressziója jellemzi.

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

Szisztémás autoimmun kórképekben a különböző érési fázisban lévő B-sejtek százalékos aránya megváltozik az egészséges egyénekből talált megoszláshoz képest. A B-sejt alcsoportokban észlelt eltérésekről azonban még nincsenek adatok MCTD-ben. Felmértük MCTD-ben a B-sejt alcsoportok megoszlását. Vizsgáltuk, hogy a betegség aktivitása hogyan befolyásolhatja a B-sejt alcsoportok arányát, továbbá, hogy MCTD-ben az anti-U1-RNP autoantitestek tartósan magas szintje milyen hatással van az egyes B-sejt alcsoportok megoszlására.

A perifériás vér B-sejt alcsoportok vizsgálatát 46 MCTD-s nőbetegen végeztük. A betegek átlagéletkora a vizsgálatkor $53,7 \pm 10,6$ év (r: 37-70 év), az MCTD fennállása $10,1 \pm 6,2$ év (r: 3-29 év) volt. 20 korban és nemben egyező egészséges egyént vizsgáltunk kontroll csoportként (életkor: $53,9 \pm 10,2$, r: 38-67 év).

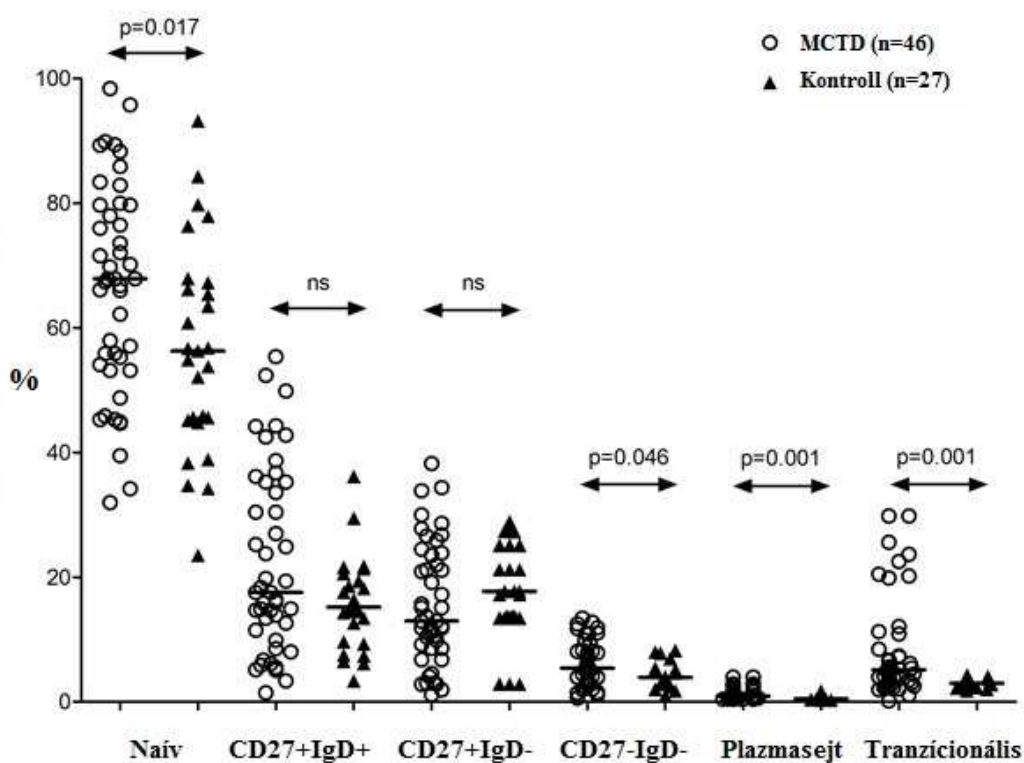
Az MCTD aktivitását SLAM (systemic lupus activity measure) score rendszerrel számoltuk ki. 6-nál nagyobb SLAM pontszám esetén tekintettük aktívnak az MCTD-t. A betegek átlagos SLAM score értéke a vizsgálatkor $6,56 \pm 3,66$ (r: 2-13) volt.

A B-sejt alcsoportokat a módszerek fejezetben ismertetett kapuzási stratégia alapján határoztuk meg. 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 sejtfelszíni markerek alapján alcsoportokra bontottuk. A 11. ábra az MCTD-s betegek és kontrollok perifériás vérében a B-sejt alcsoportok megoszlását mutatja.

11. ábra. A B-sejt alcsoportok százalékos megoszlása MCTD-ben és a kontroll csoportban:



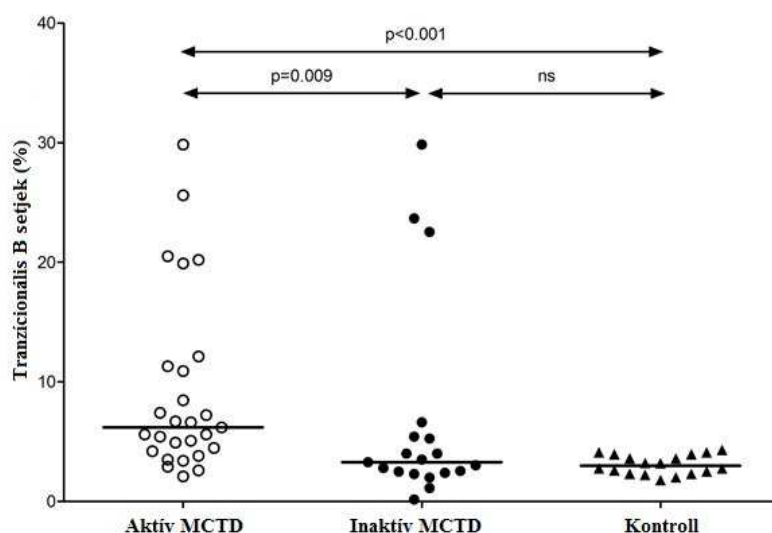
MCTD-s betegekben a kontroll csoporthoz képest számos eltérést figyeltünk meg a B-sejt alcsoportok arányaiban: szignifikánsan megnövekedett a naív (CD27-IgD+CD38^{low}) és a korai, azaz tranzícionális (CD19+CD27-IgD+CD38^{high}) B-sejtek aránya, továbbá a kettős negatív (CD27-IgD-) B-sejtek és a CD27^{high} plazmasejtek aránya is emelkedett volt a kontrollhoz képest.

B-sejt alcsoportok megoszlása aktív és inaktív MCTD-ben

Tranzícionális és naív B-sejtek (CD19+CD27-IgD+CD38^{high}) MCTD-ben:

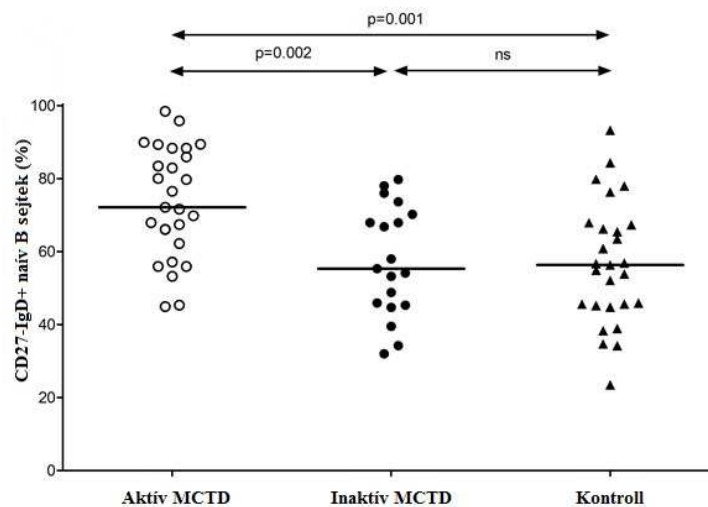
A tranzícionális B-sejt a legkoraibb B-sejt alcsoport, ami a perifériás vérben kimutatható. Ezekre a sejtekre a CD38 marker erős expressziója és a CD27 marker hiánya jellemző. Aktív, kezelés előtti betegekben a tranzícionális B-sejtek százalékos aránya és abszolút száma is magasabb volt az inaktív betegekhez és 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, $p < 0,045$)(12. ábra).

12. ábra. Tranzícionális (CD19+CD27-IgD+CD38^{high}) B-sejtek százalékos megoszlása aktív és inaktív MCTD-s betegekben:



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, $p < 0,001$](13. ábra).

13. ábra. Naív (CD27-IgD+) B-sejtek százalékos megoszlása aktív és inaktív MCTD-s betegekben:



CD27 expresszió B-sejteken:

A CD27 sejtfelszíni markert expresszáló B-sejteket az expresszió mértéke alapján 2 alcsoportra bontottuk, ezáltal a plazmasejtek és memória B-sejtek elkülönítését végeztük: a plazmasejtek CD27-et erősen expresszálják (CD27^{high}), míg a memória B-sejtre közepes mértékű CD27 pozitivitás jellemző.

A CD19+CD27+ B-sejtek megoszlása MCTD-ben a kontroll csoporthoz hasonló volt: MCTD és kontroll: 30,83 % (16,36-43,47) vs. 31,63 % (23,0-39,5, $p = 0,504$).

Memória B-sejtek MCTD-ben:

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.

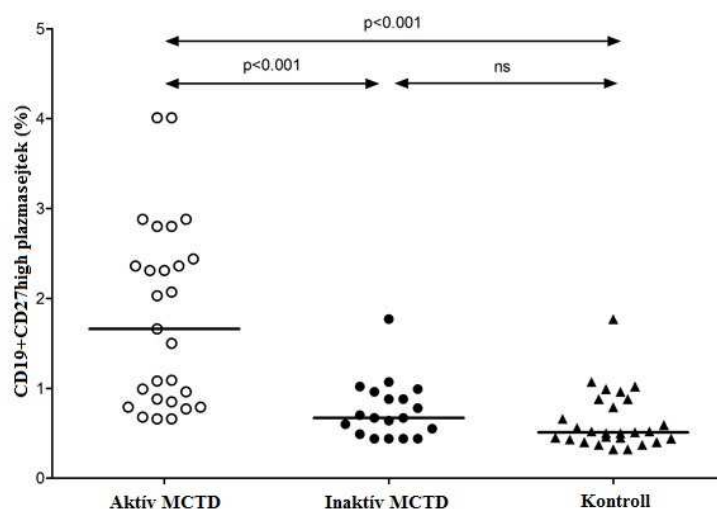
A memória B-sejtek százalékos megoszlása nem különbözött az aktív és inaktív betegek között. Aktív szakban alacsonyabb memória B-sejtszámot észleltünk az inaktív szakhoz képest, de a különbség nem volt szignifikáns [aktív és inaktív MCTD: 17,56 (9,9-30,45) % vs. 16,0 (11,5-36,18) %, $p=0,885$; abszolút 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].

CD27^{high} plazmasejtek MCTD-ben:

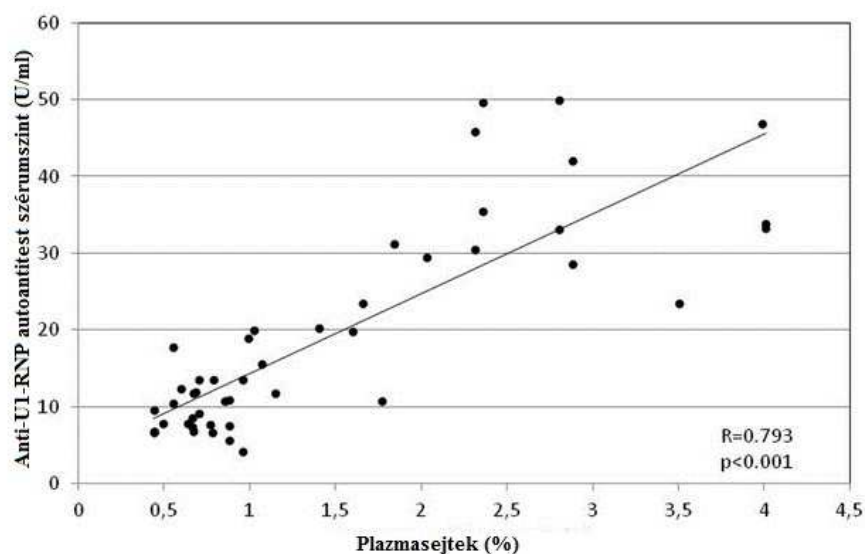
A plazmasejtek aránya szignifikánsan magasabb volt MCTD-s betegekben, mint a kontroll csoportban, valamint aktív szakban a plazmasejtek aránya további emelkedést mutatott az inaktív betegekhez képest [aktív és inaktív MCTD: 1,66 (0,850-2,44) % vs. 0,67 (0,49-0,96) %, $p<0,001$] (14.ábra).

14. ábra. CD27^{high} plazmasejtek százalékos megoszlása aktív és inaktív MCTD-s betegekben:



Szoros pozitív összefüggést találtunk a CD27^{high} plazmasejtek aránya és az anti-U1-RNP antitest szérumszintje között ($p<0,001$) (15.ábra).

15. ábra. A CD27^{high} plazmasejtek aránya és az anti-U1-RNP antitest szérumszintje közötti összefüggés MCTD-ben

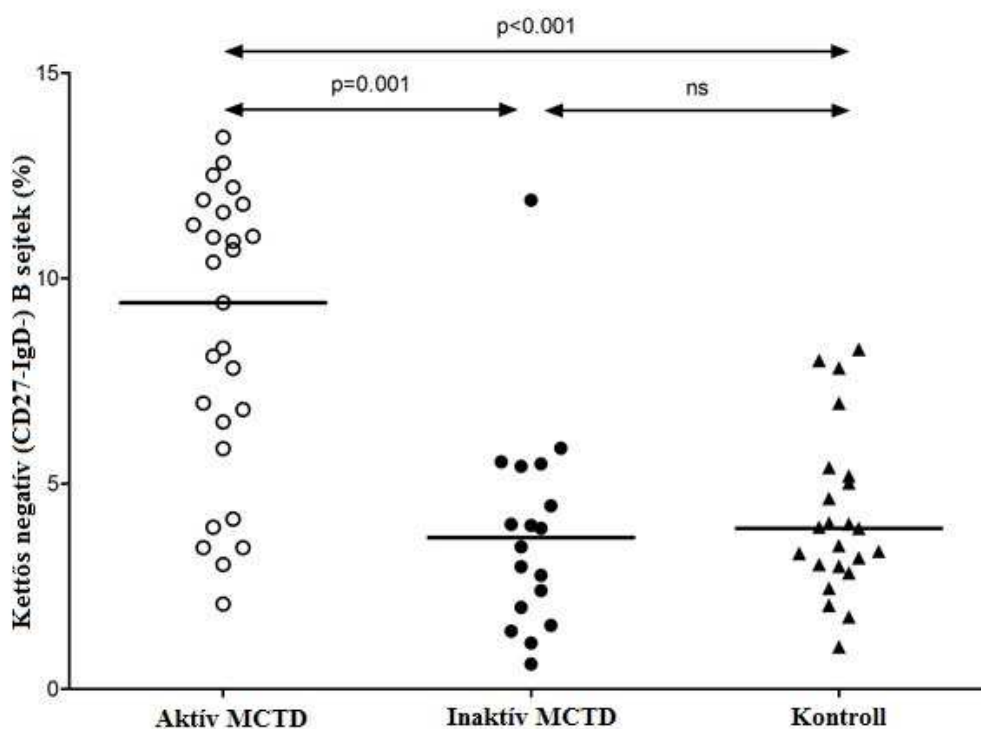


Kettős negatív (CD27-IgD-) B-sejtek MCTD-ben:

A közelmúltban a memória B-sejtek egy új csoportját azonosították, melyek a CD27 markert nem expresszálják (CD27-IgD-) [148]. Jacobi és munkatársai bebizonyították, hogy a kettős negatív memória B-sejtek CD95 felszíni markert expresszálhatnak. A CD27-IgD-CD95+ B-sejtek létrejötte kóros B-sejt aktiváció következménye lehet. Ezek a CD27-IgD-CD95+ B-sejtek összefüggést mutattak SLE-ben a betegség aktivitással [149].

Az általunk vizsgált MCTD-s betegpopulációban a kettős negatív (CD27-IgD-) B-sejtek aránya magasabb volt, mint a kontroll csoportban (**11.ábra**), 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) %, $p<0,001$] (**16.ábra**).

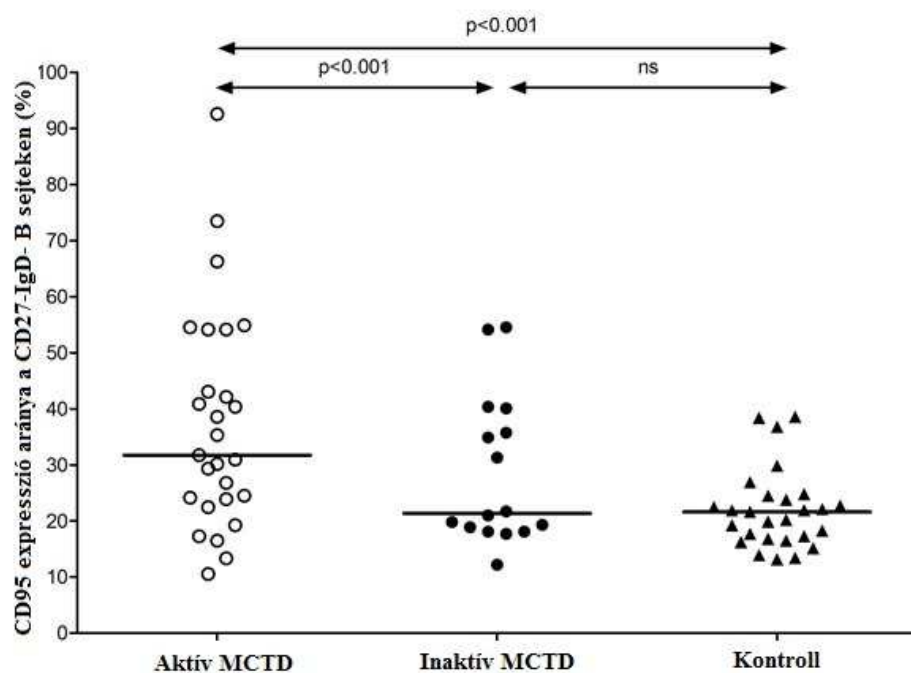
16. ábra. Kettős negatív B-sejtek százalékos megoszlása aktív és inaktív MCTD-ben:



A CD27-IgD- B-sejtek CD95 expressziója szignifikánsan magasabb volt az aktív betegekben, mint az inaktív betegekben és a kontroll csoportban (**17. ábra**).

Szoros összefüggést találtunk a CD27-IgD-CD95+ B-sejtek és a betegség aktivitása között MCTD-ben ($r=0,51$; $p<0,001$).

17. ábra. CD95 sejtfelszíni expresszió aránya a kettős negatív (CD27-IgD-) B-sejteken MCTD-ben:



Terápia hatása a B-sejt alcsoportokra MCTD-ben:

A 46 MCTD-s beteg közül a 27 aktív szakban lévő beteg részesült kezelésben.

8 beteg cyclophosphamid, 12 beteg methotrexát és 7 beteg KS (>30 mg/nap methylprednisolon) terápiát kapott. A kezelés kezdetén és 3 hónappal később vizsgáltuk a B-sejt alcsoportokat (15.táblázat).

A kezelés hatására a kettős negatív B-sejtek aránya, a CD95 expresszió mértéke csökkent, a plazmasejtek százaléka csökkent, míg a kezelés nem befolyásolta a naív és memória B-sejtek arányát.

15. táblázat. B-sejt alcsoportok aránya terápia előtt és 3 hónappal később aktív MCTD-s betegekben:

	Terápia előtt n=27	3 hónappal később n=27	p érték
CD27-IgD+ (%)	72,0 (62,1-88,3)	73,5 (61,4-81,5)	0,551
CD27+IgD+ (%)	17,5 (9,9-30,45)	16,4 (10,0-31,4)	0,697
CD27+IgD- (%)	11,8 (6,8-15,7)	10,2 (4,6-11,5)	0,108
CD27-IgD- (%)	7,8 (4,1-10,9)	4,5 (3,5-5,9)	0,024
CD95+ a CD27-IgD-sejteken (%)	31,7 (23,9-54,17)	18,2 (9,4-24,6)	0,001
CD38 ^{high} (%)	6,1 (4,2-11,3)	5,8 (4,3-8,1)	0,762
CD27 ^{high} (%)	0,88 (0,5-1,4)	0,51 (0,43-0,88)	0,007

VI. MEGBESZÉLÉS

Az MCTD első leírása óta számos tapasztalattal lettünk gazdagabbak az MCTD klinikumának megismerésében és immunológiai eltéréseinek vonatkozásában. Az MCTD megítélése az idő folyamán lényegesen változott, az eltelt 41 évet 3 fő szakaszra lehet bontani:

1. Az 1972-ben megjelent első közleménytől az 1980-as évek elejéig terjedő időszak egy kétkedésekkel teli periódus volt, amikor nem volt egységes klasszifikációja az MCTD-nek, a viszonylag kevés számú beteg, a rövid távú követkesek nem voltak elégségesek a kórkép prognózisának megítélésére.
2. A második periódusban, az 1980-as évek közepétől az 1990-es évek közepéig tartó szakaszban a hosszabb távú megfigyelések jelentősen hozzájárultak a kórlefolrás, a prognózis és a túlélési idő tisztázásához. A klinikai és a kórszövettani vizsgálatok segítették a patomorfológiai eltérések és a genetikai sajátosságok megismerését. Mindezek közreműködtek abban, hogy az MCTD patomechanizmusának egy-egy részletét megérthessük.
3. A harmadik időszak az 1990-es évek közepétől jelenleg is tart. Az MCTD-ben észlelt autoantitestek patogén szerepének megismerése és bizonyítása jelentette és jelenti ma is a legnagyobb kihívást. Az 1990-es évek közepén a biokémiai vizsgálatoknak köszönhetően vált ismertté, hogy az anti-U1-RNP hatására in vivo autoreaktív T-sejt klónok termelődnek MCTD-s betegekben. In vitro vizsgálatok bizonyították, hogy az U1-RNP szerkezetének változása, az oxidatív módosulás után a 38 kD, valamint a caspase hatására létrejött 40 kD hasadási termékek olyan autoantigének keletkezését idézhetik elő, amelyekkel szemben immuntolerancia nem alakult ki [28-30]. A jelenlegi álláspont szerint először a hasadási termékek, a neoantigének ellen termelődnek autoantitestek, majd az epitóp terjedés révén a teljes 70 kD protein ellen termelődik autoantitest [31,32].

Az anti-U1-RNP autoantitest szerepét a betegség kiváltásában, a szöveti károsodás kialakulásában ma sem ismerjük teljes biztonsággal.

A klinikai immunológus számára azonban továbbra is sarkalatos kérdés maradt a kórkép klasszifikációja, a betegség előfázisának megismerése, a szervi eltérések prognosztikai jelentősége és a megfelelő terápia megválasztása. Ezzel párhuzamosan vizsgálni kellett, hogy az immunszerológiai változások mennyire követik, vagy előzik meg a szervi eltéréseket, és

megválasztani azokat a paramétereket, melyek az immunreguláció zavarát jelzik, és markerei lehetnek a szervi gyulladásnak, a vasculatura károsodásának. Szerencsésnek mondhatom magam, mert a DEOEC Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszékén 1979 óta gondozott MCTD-s betegcsoport állt rendelkezésemre, és ezeknek a betegeknek a gondozásában, ellátásában vehettem részt [63,64,116,133].

Az MCTD klasszifikációs kritériumainak összehasonlítását Amigues és mtsai 1996-ban végezték el [124], majd Gunnarsson és mtsai a 2011-ben megismételték a norvég populációban [44]. Az adatok feldolgozása alapján a módosított Sharp, Kasukawa, és Alarcon-Segovia kritériumtünetek egyformán bizonyították az MCTD-t [44]. A munkánkban a szenzitivitásában és specificitásában egyaránt magas, és viszonylag egyszerűen és gyorsan alkalmazható Alarcon-Segovia és Villarreal által leírt kritériumtüneteket használtuk a diagnózis felállításához [119].

VI.1. Az MCTD-s betegek hosszú távú követése

Jelen munka első részében a DEOEC Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszékén 1979 és 2011 között követett 280 MCTD-s betegcsoporton vizsgáltuk a betegség kórlefolyását, prognózisát, illetve az MCTD-s betegek túlélését befolyásoló tényezőket.

A betegpopulációt jelentős női dominancia jellemezte, 12,3:1 a nő:férfi arány, a korábbi tanulmányokhoz hasonlóan [1,9,43].

Az átlagosan 13,1 éve gondozott 280 MCTD-s beteg a követési idő alatt mindvégig megmaradt MCTD-nek. A követési idő alatt a betegekben a kezdetben észlelt tünetek mellett új tünetek jelentek meg, új szervi érintettség alakult ki, a betegek azonban nem mutattak progressziót más szisztémás autoimmun kórképbe, mint például SLE vagy SSc.

Az MCTD diagnózisának felállításakor a leggyakoribb tünet a Raynaud jelenség, ízületi érintettség, bőrtünetek, sclerodactylia, kézhátduzzanat, nyelőcső motilitászavar voltak. A Raynaud jelenség, kézhátduzzanat előfordulása nem változott lényegesen a kórlefolyás során. Nem emelkedett jelentősen a bőrtünetek előfordulása, a bőrtünetek típusa sem változott a követési idő alatt. Ugyanakkor nőtt a polyarthritisek, a serositisek, a nyelőcső motilitászavar, a myositis előfordulása.

Voltak szervi eltérések, amelyeket a betegség kezdetekor nem észleltünk, vagy csak nagyon kis százalékban jelentkeztek, és a kórlefolyás alatt váltak egyre gyakoribbá. A követés 4. évében észleltük az első pulmonalis artériás hipertenzió jelentkezését. 50 betegben

jelentkezett PAH a kórlefolyás során. Az MCTD kezdetén interstitialis légzőszervi eltérés mindössze 2 betegben volt jelen, a követés alatt a 132 betegben (47,1 %) jelentkezett, így az ILB a leggyakoribb légzőszervi tünetnek tekinthető a vizsgált betegcsoportban. Az irodalmi adatok alapján az ILB előfordulása 40-85 % [43,61,64,65]. Sullivan és munkatársai 34 MCTD-s betegből 10 betegben észleltek puha gócos homályokat a mellkas felvételen [43].

Az interstitialis légzőszervi betegség esetében a tüdőbiopsziás minták szövettani feldolgozása interstitialis pneumonitist igazolt, és alátámasztotta a magas felbontóképességű CT-vel kapott eredményeket. A recidivára hajlamos pneumonitis korai és gyors diagnosztizálásában kitüntetett szerepe volt a magas felbontóképességű CT-nek, biztos és pontos véleményt adott a folyamat lokalizációjától, a kiterjedés nagyságáról.

Az ILB-ben szenvedő betegek szérumában az antiszintetáz szindrómára jellemző anti-Jo1 antitesteket nem tudtunk kimutatni.

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).

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.

A 280 MCTD-s beteg 5 éves túlélése 98 %, 10 éves túlélése 96 %, illetve a 15 éves túlélése 88 % volt. A jelen eredményeinket összevetve az 1979-ben közölt 179 MCTD-s beteg túlélési analízisével elmondható, hogy a túlélési arány javult MCTD-ben. 1979-ben a betegek 5 éves túlélése 96,4 %, a 10 éves túlélése 93,9 %, a 15 éves túlélése 89,6 % volt [150]. A jobb prognózisban szerepe lehet a diagnosztikai és terápiás lehetőségek fejlődésének, a már korai panaszok esetén is gyakran alkalmazott diagnosztikus módszereknek, a hisztopatológiai eltérések jobb megismerésének és az időben kezdett terápiának.

Az MCTD mortalitása az immunológiai centrumoktól függően változó, irodalmi adatok alapján átlagosan 10-12 éves követési idő alatt a betegség mortalitása 12-28 % közé tehető [9,43,54,120,150].

A kezdetben jóindulatúnak vélt MCTD-ről 1980-ban Nimelstein igazolta elsőként, hogy a betegség mortalitása magas [54]. Sullivan 1984-ben átlagos 11 éves követési idő alatt az MCTD mortalitását 12%-nak találta, a betegek 82%-a PAH miatt exitált [43].

1987-ben Miyawaki és munkacsoportja 45 MCTD-s beteg 5 éves túlélését 90,5 %-nak, a 10 éves túlélést 82,1 %-nak találta [151]. Hosoda 1987-ben a meghalt MCTD-s betegek

mindegyikében az arteriolák intima megvastagodását, a media hypertrophisálását észlelte, a betegek 64 %-ában PAH-ra jellemző kórszövettani képet talált [109]. Burdt 1999-ben 15 év alatt 23 %-os mortalitást észlelt, fő halálok a PAH volt [9].

A követési idő alatt a 280 betegből 22 betegünk halt meg (7,8%). 12 betegben a halálok közvetlenül az MCTD manifesztációja volt, míg 10 betegben a halálok az MCTD, mint alapbetegség következményéből adódott (cardiovascularis esemény, infekció). Az MCTD-vel közvetlenül összefüggő haláloki tényezők között 22 betegből 9 betegben (40,9%) PAH, 3 betegben (13,6 %) TTP/HUS volt a halál oka.

A 280 gondozott betegből 50 betegben észleltünk pulmonalis artériás hipertenziót. Átlagosan 8,4 év telt el az MCTD diagnózisa és a PAH kialakulása között. A PAH-os betegekben magasabb anti-U1-RNP szérumkoncentráció volt észlelhető, valamint szignifikánsan gyakoribb volt az AECA, TM és vWFAg előfordulása.

Az 50 PAH-os beteg közül 9 beteg halt meg a követés során. A 2002-ben végzett felméréskor 179 MCTD-s betegből 25 betegben észleltünk PAH-ot, és a PAH-os betegek 20 %-a exitált [150].

Bár a PAH-os betegek túlélése a korábbi tanulmányokhoz képest javulást mutat, az eredmények azt jelzik, hogy a PAH mortalitása továbbra is magas [43,60,61]. A kortikoszteroid és immunszuppresszív terápia mellett új terápiás lehetőség a prosztanoidok, endothelin receptor antagonisták, a foszfodiészteráz-5 gátlók adása, melyek javulást hoztak a pulmonalis státuszban. Bár egyre több PAH-os beteg sikeres kezeléséről számolnak be MCTD-ben, és a PAH-os betegek túlélése is javul, még mindig vezető halálok, és jelentősen rontja a prognózist.

A pulmonalis artériás hipertenzió mellett a cardiovascularis érintettség, a secunder antifoszfolipid szindróma előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt a meghalt betegekben, és jelenlétük nagyobb rizikót jelentett a halálozásra. A serositisek, nyelőcső motilitászavar, veseérintettség és malignus tumorok előfordulása is negatívan befolyásolta az MCTD-s betegek túlélését. Az autoantitestek közül az anti-CL antitest, az anti- β 2-GPI és endothelsejt elleni antitest pozitivitás növelte a betegek mortalitását.

A PAH után a cardiovascularis betegség áll a második helyen a haláloki tényezők között. Korábbi munkában az endothel diszfunkció, a dyslipidaemia, a cardiovascularis abnormalitások gyakori előfordulása volt észlelhető MCTD-ben [152, 153]. A korábbi

eredmények alapján MCTD-ben felgyorsult az atherosclerosis folyamata, és nagyobb a veszélye annak, hogy cardiovascularis esemény bekövetkezik [152, 153]. Ezt a jelen munkánk is megerősíti.

A TTP ritka manifesztációja az MCTD-nek. A követési idő alatt 3 betegben alakult ki TTP, mindhárom beteg meghalt. A betegekben a TTP kialakulásakor az MCTD aktív szakban volt, súlyos arthritises tünetek és pericarditis volt észlelhető. A TTP a betegekben rendkívül gyorsan progrediált, és terápia rezisztenciát mutatott. Thrombocyta és fibrin thrombusok elzárták a vese, pancreas, myocardium, agy és egyéb szervek kapillárisait és arterioláit.

A mortalitáshoz beteganyagunkban az infekciók is jelentősen hozzájárultak. Két beteg krónikus hepatitis C infekció következtében halt meg. Mindkét beteg a visszatérő ILB-k miatt tartós KS terápiát igényelt. Egy férfibeteg Staphylococcus szepszisben halt meg. Aktív arthritise volt, amire napi 10 mg prednisolont szedett.

Szisztémás autoimmun kórképek és rosszindulatú tumoros betegségek társulása ismert az irodalomban. MCTD-ben tumorok előfordulásáról egyelőre csak esetismertetések vannak [154,155]. Nagy MCTD-s betegcsoportban elsőként írtuk le a malignus tumorok jelentkezését. A 280 betegből 16 betegben (5,7 %) alakult ki malignus betegség a kórlefolyás során. A 16 betegből 6 beteg halt meg, de a halálok nem a tumoros folyamat volt. Az általunk követett MCTD-s betegekben a rosszindulatú daganatos betegség prevalenciája hasonló, mint a hazai SLE-s (4,3 %) és szisztémás sclerosisos (4,6 %) populációban [156,157].

Az immunszuppresszív terápia autoimmun betegek kezelésében kulcsfontosságú. A szervi károsodás csökkentése mellett azonban számos mellékhatással is számolni kell. Két fő probléma az infekciók kialakulása, illetve hosszú távon a tumorok gyakoribb előfordulása. A saját betegcsoportban nem találtunk összefüggést a nagy dózisu steroid kezelés, a citotoxikus szerek alkalmazása és a mortalitás között.

Autoantitestek MCTD-ben:

Az MCTD diagnózisának alapja a nukleáris RNP ellen termelődött autoantitestek jelenléte. A 280 MCTD-s betegben a diagnosztikus kritériumnak megfelelően kimutatható volt az anti-RNP antitest. Az anti-U1-RNP autoantitest titer MCTD-ben a betegség aktivitásától függően változhat, de nem követi olyan szabályosan a betegség aktivitását, mint

az anti-DNS szint SLE-ben. Az U1-RNP elleni antitest megjelenhet SLE-ben, SSc-ben 5-15%-ban, de lényegesen alacsonyabb szérumkoncentrációban, mint MCTD-ben.

Az U1-RNP autoantitest a kórkép sajátos jellemzője, de MCTD-ben, hasonlóan más szisztémás autoimmun kórképhez, a marker autoantitestek mellett más típusú patogén autoantitestek is jelen lehetnek.

Endothelsejt elleni antitest 94 beteg (33,5%) szérumában volt jelen, anti-CL antitestet 98 beteg (35,0 %) széruma tartalmazott, anti- β 2-GPI antitestet 79 esetben (28,2%) 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 lényegesen kisebb gyakoriságban voltak jelen MCTD-ben.

Az MCTD-s betegek követése során szoros összefüggést találtunk a thrombotikus történések és az endothelsejt elleni antitestek, valamint az anti-CL IgG és anti- β 2-GPI IgG és IgM jelenléte között. Pozitív korrelációt észleltünk cardiovascularis betegségek előfordulása és az anti-CL, az anti- β 2-GPI antitestek között.

Az anti-RNP, az endothelsejt ellen termelődő antitestek és az anti-CL autoantitestek endothelsejt aktivációt és endothelsérülést okoznak, fokozzák az adhezív proteinek megjelenését a kis-, középnagy és a nagyartériákon egyaránt. Az aktivált endothelsejtből vazóaktív mediátorok, gyulladásos citokinek (endothelin-1, IL-1) és thrombogén anyagok (P szelektin) szabadulnak fel, sérül az érrendszer, aminek következménye a szöveti gyulladás, szervkárosodás [116, 158-160].

VI.2. Fenotípus jellemzők MCTD-ben

2007-ben Aringer és Smolen [161] megfigyelte, hogy az MCTD-s betegek egy részében főleg a vascularis károsodással jellemzett tünetek vannak, mint a PAH, a Raynaud jelenség, más MCTD-s betegekben az interstitialis légzőszervi betegség és myositis állnak előtérben, míg vannak olyan betegek, akikben a synovitis, valamint a kórlefolyás során egyre súlyosbodó ízületi deformitások okoznak életminőség károsodást. Aringer és Smolen feltételezése alapján a vasculatura károsodást antitest dependens mechanizmusok váltják ki, míg az interstitialis pulmonalis gyulladásban és a myositisben az immunkomplexek patogén szerepét igazolták az eddigi hisztopatológiai vizsgálatok [50]. Az U1-RNP elleni antitestek mellett az MCTD-s betegekben kimutatható további patogén autoantitestek jelenléte eltérő szervi károsodást provokálhat, ily módon alcsoportok különíthetők el az MCTD-n belül.

A klinikai megfigyeléseink alátámasztására statisztikai módszert, klaszter analízist alkalmaztunk a megadott paraméterek alapján.

Az általunk klaszter analízissel feldolgozott 201 MCTD-s betegből az 1-es csoportba került betegek többsége az anti-U1-RNP mellett az anti-CL és az AECA antitestekre is pozitív volt, a klinikai tünetek közül pedig a PAH és a thrombotikus események álltak előtérben. Az MCTD-s betegekben szoros összefüggést találtunk az endothelsejt elleni antitestek és az anti-CL IgG jelenléte és a pulmonalis artériás hipertenzió kialakulása között.

Az anti-U1-RNP antitestnek klasszikus patológiai megnyilvánulása, hogy kötődik az endothelsejthez, aktiválja azt, de novo adhézións molekulák (E-szelektin, VCAM) szintetizálódnak, és az aktivált endothel által termelt mediátorok gyulladást és simaizomsejt proliferációt provokálva rontják a pulmonalis keringést. A betegségben kimutatható egyéb autoantitestek súlyosbítják a vascularis károsodást és szerepük lehet a PAH kialakulásában. Az endothelsejt ellen termelődött antitesteknek szerepe lehet a PAH kialakulásában. Az AECA-t vasculitisben és poliszisztémás autoimmun kórképekben mutatták ki, és ma már egyértelmű, hogy kulcsszerepük van az érkárosodás immunpathomechanizmusában. Az immunológiai effektor mechanizmustól függően direkt lízissel, komplement függő mechanizmussal vagy antitest dependens celluláris citotoxicitás révén károsodik, vagy legalábbis aktiválódik az endothelsejt, ami a keringésben levő limfociták adhézióját, transzmigrációját, és szöveti gyulladást idéz elő. Más tanulmányok az anti-U1-RNP antitesttel egyidejűleg jelen lévő antifoszfolipid antitestek szerepét is feltételezik a PAH létrejöttében [112,113].

Az AECA gyakran asszociált anti-CL antitest reaktivitáshoz. Del-Papa keresztreaktivitást talált az anti-CL és AECA antitestek között, ami magyarázhatja az anti-CL antitest pozitív SLE-s betegekben a PAH kialakulását [162].

Korábbi munkában a PAH szoros összefüggést mutatott az AECA és az anti-CL antitestek jelenlétével [160]. Hasegawa és mtsai emelkedett anti- β 2-GPI IgG szintet találtak MCTD-PAH betegekben [114].

A klaszter analízissel a 2-es csoportba került betegekben a myositis, ILB és nyelőcső motilitási zavar tünetei álltak előtérben a másik két csoporthoz képest. Előzetes munkában a légzőszervi károsodással jellemzett betegekben észlelt kórosan magas immunkomplex szint alapján úgy véljük, hogy az immunkomplex-mediálta alveoláris kapilláris károsodás okozhatja az ILB kialakulását MCTD-ben [64]. Myositis jelenléte ugyancsak a 2-es csoport betegeire volt jellemző.

A 3-as csoportba tartozó 45 betegből 37 esetben az anti-U1-RNP antitest mellett az anti-CCP antitest is pozitív volt.

Az anti-U1-RNP autoantitest mellett az elmúlt években ciklikus citrullinált peptidek ellen termelődött (anti-CCP) autoantitestet észleltek MCTD-s betegekben [110,111]. Az anti-CCP antitestet hordozó betegeknek súlyos arthritises tünetei voltak, ami gyakran okozott deformációt a kéz ujjain és a kisízületekben. Úgy gondoljuk, hogy az erozív arthritis kialakulásában az anti-CCP antitesteknek is szerepe van. Az MCTD-re sajátos, hogy az eróziók az MCTD 5-10 éves fennállása után fejlődtek ki, a betegség kezdetén nem voltak jelen. Az MCTD-s betegek hosszú távú követéses vizsgálatai igazolták, hogy a kórlefolyás során az MCTD-s betegek 30%-ában erozív arthritis alakulhat ki [48,163]. Takasaky és mtsai 86 MCTD-s beteg 9%-ában találtak anti-CCP antitesteket, és az anti-CCP pozitív betegek 63%-ában radiológiai eróziót igazoltak [110].

Az anti-U1-RNP antitest karakterisztikus MCTD-re, és meghatározza a betegség tüneteit, de eredményeink alapján az AECA, anti-CL és anti-CCP antitestek árnyalhatják az MCTD klinikai megjelenését.

VI.3. Halláscsökkenés

A poliszisztémás autoimmun betegségeknek egyik szervi manifesztációja lehet a belső fül érintettsége, mely sensorineuralis halláscsökkenésben (SNHCS) és egyensúlyzavarban nyilvánulhat meg. Az immunmediálta SNHCS gyakran társul primer szisztémás vasculitisekhez, de leírták már SLE-ben, Sjögren szindrómában, rheumatoid arthritisben, progresszív szisztémás sclerosisban, primer antifoszfolipid szindrómában, colitis ulcerosaban, Crohn betegségben, polymyositisben és dermatomyositisben [164-173].

Munkánkban 71 MCTD-s betegben vizsgáltuk a SNHCS előfordulását. A 71 MCTD-s betegből 33 esetben (46,5 %) észleltünk SNHCS-t, ami szignifikánsan gyakoribb volt, mint a normál populációban. Nem találtunk összefüggést MCTD-ben a hallásvesztés tartama, a betegség fennállása, az alkalmazott citosztatikus és kortikoszteroid kezelés között.

A 33 SNHCS-sel járó MCTD-s beteg közül 10 (30,3%) beteg észlelte hallásának romlását, 23 esetben (69,6%) az audiometriás vizsgálat mutatta ki a halláskárosodást. Az MCTD-ben észlelt SNHCS-re jellemző volt, hogy viszonylag lassan, hónapok, évek alatt alakult ki. A halláscsökkenés minden betegben kétoldali volt, ami arra utalt, hogy a sensorineuralis hallásvesztés a szisztémás autoimmun betegség, az MCTD részjelenségének tekinthető.

Az MCTD-s betegek szervi eltérései közül a Raynaud tünet jelenléte hajlamosító tényező volt a SNHCS kialakulására. Azokban a betegekben, akikben az MCTD-hez secunder APS társult artériás, vénás thrombosisok vagy cerebralis stroke formájában, nagyobb volt a SNHCS kialakulásának a veszélye.

Szisztémás autoimmun kórképekben a sensorineuralis eredetű halláscsökkenésről nagy betegcsoportot magában foglaló tanulmány nincsen, és a kórfolyamat kialakulásának mechanizmusa sem ismert teljes pontossággal.

Karatas és mtsai 28 SLE-s betegből 6 betegben (21 %) [164], Gomides és munkacsoportja 45 SLE-s betegből 7 betegben (15,6 %) igazoltak sensorineuralis eredetű halláskárosodást [174]. Nem találtak összefüggést a SNHCS, a betegek kora, a betegség fennállása, és az SLE aktivitása között. Más munkacsoport a SNHCS-sel járó SLE-s betegek szérumában anti-CL vagy lupus anticoagulans jelenlétét mutatta ki [169]. Sjögren szindrómás betegek 46 %-ában (14/30) észleltek SNHCS-t, és a 14 betegből 9 szérumában foszfolipid struktúrák ellen termelődött antitestek voltak jelen [173]. Casoli egy 55 éves Sjögren szindrómás nőbeteg esetéről számolt be, akinél hirtelen kezdetű SNHCS-t és vertigot észlelt, és a beteg szérumában IgG és IgM típusú anti-CL volt jelen [175]. 1993-ban Hisashi elsőként figyelt fel arra, hogy a SNHCS kapcsolatban lehet a betegek szérumában lévő foszfolipid struktúrák ellen termelődött autoantitestek jelenlétével [176]. Toubi 51 SNHCS-es betegéből 16 (31 %) anti-CL pozitív volt, és 6 (12 %) betegben az anti-CL mellett a β 2-GPI ellen termelődött antitest is jelen volt [177]. A β 2-GPI elleni autoantitest a jelenlegi ismeretek alapján jobban hajlamosít thrombotikus szövődmény kialakulására, mint az anti-CL. Mouadeb prospektív tanulmánya bizonyította az antifoszfolipid antitestek szerepét a belső fül károsodás kiváltásában [170]. Százhatvannyolc ismeretlen eredetű SNHCS-ben szenvedő beteg szérumában 25 %-ban egy típusú antifoszfolipid antitest jelenlétét mutatták ki, míg 11,9 %-ban a betegek széruma kettő vagy több foszfolipid struktúra ellen termelődött antitestet is tartalmazott.

A növekvő számú irodalmi megfigyelések alapján arra lehet következtetni, hogy szisztémás autoimmun kórképekben a betegek szérumában az anti-CL, a lupus anticoagulans és a β 2-GPI ellen termelődött antitesteknek provokáló szerepe lehet a SNHCS kialakulásában.

Az általunk vizsgált SNHCS-sel járó MCTD-s betegek szérumában magasabb volt az RNP elleni antitestek, az endothelsejt elleni autoantitestek és az anti-CL szérumkoncentrációja, mint a halláscsökkenés nélküli MCTD-s csoportban, ill. a kontroll egyénekben. Az MCTD-s betegek szérumában lévő autoantitestek által okozott vascularis eltérések a belső fület is érintik, a cochlearis keringés károsításával a belső fül sérüléséhez vezetnek, aminek SNHCS

lehet a következménye. Ily módon a szisztémás autoimmun betegség egyik manifesztációjának tekinthető a belső fül károsodása.

A patogén autoantitestek mellett a szabályozó mechanizmus zavara, a regulatórikus T-sejtszám változása, a CD4⁺ Th1-sejtek fokozott citokin termelése is hozzájárulhat a szervi manifesztációk megjelenéséhez. A természetes (CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺) regulatórikus T-sejtszám csökkenését MCTD-ben két munkacsoport is igazolta [131,178].

A jelen munkánkban azt találtuk, hogy a természetes Treg sejtek száma alacsonyabb MCTD-ben mint az egészséges populációban, és abszolút értékben a SNHCS-sel járó betegekben ez a csökkenés még kifejezettebb. Az általunk vizsgált SNHCS-sel járó és a SNHCS nélküli MCTD-s betegek azonos megoszlásban kaptak citosztatikus kezelést (cyclophosphamid és MTX), így a természetes Treg sejtszám csökkenés nagy valószínűséggel nem az alkalmazott kezelésnek tulajdonítható.

A betegek szérumában az IFN- γ és a TNF- α proinflammatórikus citokinek emelkedett szintje, a CD4⁺ T-sejtek INF- γ tartalmának növekedése tartós szöveti sérüléshez vezet. Az immunválasz szabályozásában alapvető szerepet játszó természetes Treg sejtszám csökkenése is hozzájárulhat a Th1 irányú polarizációhoz, ami gyulladásos reakciót és szöveti sérülést vált ki [179].

A periférián az indukálható IL-10⁺ Treg sejtek számának emelkedése kompenzációs mechanizmusnak tekinthető, amivel a szervezet a fiziológiás szabályozási mechanizmust törekszik helyreállítani.

VI.4. D-vitamin és cardiovascularis betegség

A D-vitamin az egyik fontos környezeti tényező, mely az immunrendszerre kifejtett hatásán keresztül befolyásolhatja az autoimmun kórképek prevalenciáját [134-137].

Számos autoimmun kórkép, mint az SLE vagy RA prevalenciája összefüggésben van a D-vitamin szinttel, továbbá a D-vitamin hiány a betegség aktivitását, súlyosságát is fokozhatja [138-141].

A D-vitamin hiányos állapot a hagyományos cardiovascularis rizikófaktorokat is előnytelenül befolyásolja [143-145]. A közelmúlt kutatásai bizonyították, hogy az atherosclerosis folyamatában az autoimmun reakciók és a szisztémás gyulladásos állapot is meghatározó szerepet játszik [180-182].

Jelen munkában MCTD-s betegekben felmértük a D-vitamin szint összefüggését a klinikai, immunszerológiai jellemzőkkel, a gyulladásos citokin szintekkel és a cardiovascularis eseményekkel.

Tanulmányunkban mi írtuk le először, hogy MCTD-s betegekben magas a D-vitamin hiány előfordulása. A vizsgált 125 MCTD-s betegből összesen 74 betegnek (59,2 %) volt az élettani tartomány alatt a D vitamin szintje. A 74 betegből 31 beteg (24,8 %) D-vitamin elégtelenségben, és 43 beteg (34,4 %) D-vitamin hiányban szenvedett. Megvizsgáltuk a betegek D-vitamin szintje és különböző autoantitestek, gyulladásos citokinek, valamint lipid paraméterek közötti kapcsolatot.

A munkánkban az anti-RNP antitest és a D-vitamin szint között negatív asszociációt találtunk. Az anti-U1-RNP antitest önmagában is képes aktiválni és károsítani az endothelsejtet, aminek következtében intima hyperplasia, media hypertrophia alakul ki, és az obliteratív vasculopathia pulmonalis artériás hipertenzió kialakulásához vezet.

Munkánkban azt találtuk, hogy D-vitamin hiányban szignifikánsan gyakoribb a thrombotikus események előfordulása, és a betegek megfelelnek a klasszikus antifoszfolipid szindróma (APS) kritériumainak. Agmon-Levin és mtsai. leírták, hogy APS-ban gyakori a D-vitamin hiány [183]. A betegek 49,5 %-ának a D-vitamin szintje 15 ng/ml alatt volt, a kontroll populációban ez csak 30 % volt, és a D-vitamin hiány szignifikánsan összefüggött a thrombosisokkal.

Az MCTD-s betegekben az endothelsejt károsodást jelző TM, vWFAg és ET-1 szintje szignifikánsan magasabb volt a kontrollhoz képest. Az alacsony D-vitamin szint és a magas TM valamint ET-1 szint között szignifikáns összefüggés volt életkorra, testtömeg-indexre, dohányzásra, menopausára, diabetes mellitusra korrigált multivariáns statisztikai módszerrel vizsgálva.

Feltételezzük, hogy a keringő endothelsejt markerek az anti-U1-RNP és antifoszfolipid antitest mellett az endothelium aktivált állapotát tükrözik. Korábbi munkában a TM és vWFAg szintje szignifikánsan magasabb volt a cardiovascularis betegségben is szenvedő MCTD-sekben a cardiovascularisan nem érintett MCTD-s betegekhez képest [153]. A TM és vWFAg fontos endothelsejt aktivációt jelző markerek lehetnek.

Az alacsony D-vitamin szint szorosan összefüggött a magas IL-6 és IL-23 citokin szintekkel. Az MCTD-s betegekben észlelt szérum IL-6 citokin szint emelkedéssel párhuzamos IL-23 és IL-17 citokin szint emelkedés megerősíti a T-helper típusú Th17 sejtek immunpatológiai szerepét az MCTD kórfolyamatában. Egyes szerzők az 1-es és 2-es típusú

citokinek szérumszintjét is emelkedettnek találták MCTD-ben [184,185], míg mások csökkent IL-4 és fokozott IFN- γ szekréciót írtak le [186,187].

A CD4⁺ T-sejtek heterogén sejtpopulációt jelentenek, pro- és antiinflammatorikus tulajdonsággal egyaránt rendelkeznek. A Th1 sejtek IFN- γ -t, a Th2 sejtek pedig IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 citokineket termelnek. A Th17 sejtek a Th1 és Th2 sejtektől is elkülönülnek, és kulcsfontos szerepet játszanak a sejtek, szövetek autoimmun gyulladás miatti károsodásában, valamint kísérletes modellek alapján a Th17 sejtek az IL-23/IL-17 útvonalon keresztül elindíthatnak és fenntarthatnak autoimmun folyamatokat [188-192].

Emelkedett szérumszintű IL-17 szinteket leírtak már sclerosis multiplexben, psoriasisban, és más autoimmun kórképekben [193]. Az IL-17 túlermelődése szisztémás sclerosisban és felnőttkori Still betegségben egyértelműen a betegség korai fázisára volt jellemző [194,195], míg SLE-ben az irodalmi adatok ellentmondásosak [196,197].

Eredményeink azt sugallják, hogy MCTD-ben a citokinek fontos és sokrétű funkciót töltenek be. Az emelkedett IFN- γ szint celluláris immunválaszt indukál, az IL-4, IL-5, IL-6 és IL-10 citokinek fokozzák az antitesttermelést és humorális immunválaszt indukálnak. Az IL-10 regulatív hatású citokin, szintje MCTD-ben emelkedett volt. A magas IL-10 szint kompenzatorikus mechanizmus eredménye lehet, amely védi a szerveket a gyulladásos folyamattól. Úgy tűnik, hogy az IL-10 túlprodukció MCTD-ben nem volt képes gátolni az IL-6 és IL-23 citokinek hatását.

Az alacsony D-vitamin szinttel MCTD-s betegeinkben összefüggött a magas koleszterin szint, és a csökkent ApoA1 szint. A triglicerid, az LDL- és HDL-koleszterin szintek és a D-vitamin között nem találtunk kapcsolatot. Auwerx és mtsai. is pozitív korrelációt találtak a D-vitamin és ApoA1 szint között 358 személyt vizsgálva [198]. Liu és munkatársai a D-vitamin és a HDL-koleszterin között pozitív kapcsolatot, míg a D-vitamin és triglicerid között negatív asszociációt találtak, de az eredményük a saját munkánkhoz hasonlóan nem volt szignifikáns a zavaró tényezők korrigálása után [199]. Más szerzők az alacsony D-vitamin szint és a magas LDL, koleszterin és triglicerid szint között szignifikáns összefüggést találtak [144].

Munkánkban az arteria carotis intima-media vastagsága és a D-vitamin szint között fordított összefüggést találtunk. A carotisok intima-media vastagságának meghatározása alkalmas módszer a korai vascularis eltérések diagnosztizálására. Az intima-media vastagság mérésével a szubklinikai atherosclerosis kimutatható, és erős prediktív értéke van a myocardialis infarctus és stroke előrejelzésében [200]. 2-es típusú diabetes mellitusban a D-vitamin hiány magas prevalenciáját találták, és az alacsony D-vitamin szint szorosan

összefüggött a megnövekedett intima-media vastagsággal [201]. Pilz és munkatársai ezzel ellentétben nem találtak kapcsolatot a D-vitamin szintek és az arteria carotis IMT között 614 idősebb személyt vizsgálva [202].

A cardiovascularis betegség és a D-vitamin szint között a zavaró tényezők korrigálása után is szignifikáns negatív korrelációt észleltünk MCTD-s betegeinkben. A Framingham Offspring Study eredményei alapján a D-vitamin hiányos állapot cardiovascularis rizikófaktornak tekinthető a hagyományos rizikófaktorok mellett [147].

Egy 16603 személyt érintő keresztmetszeti vizsgálatban a cardiovascularis betegségen (myocardialis infarctus, angina vagy stroke) átesettek D-vitamin szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a cardiovascularis betegségben nem szenvedőkhöz képest [203].

VI.5. B-sejt alcsoportok

A B-sejteknek jelentős szerepe van az antigén prezentációban, a citokinek termelésében, a lymphoid organogenezisben, az effektor T-sejtek differenciálódásában és természetesen az autoantitestek képzésében. A haemopoetikus őssejtekből az érett B-sejtek kifejlődése többlépcsős folyamat: a pro-B-sejtekből pre-B-sejtek és éretlen B-sejtek kerülnek a perifériás vérbe, amelyek szelekciós folyamaton mennek át, és a saját antigén felismerésére képes B-sejtek kisselektálódnak. A T-sejt függő antigénnel való kölcsönhatás eredményeképpen a B-sejtekből magas affinitású effektor B-sejtek, memória B-sejtek, immunglobulint szekretáló sejtek differenciálódnak. A B-sejt válasz kifejlődését szignál mechanizmusok szabályozzák a B-sejt antigén receptor (BCR) komplexen keresztül. A BCR szignált sejt felszíni molekulák vagy citoplazmatikus szignál transzdukciós mechanizmusok szabályozzák, melyek növelik vagy károsítják a BCR-t a B-sejtek fejlődése során, hogy az saját vagy idegen antigénre reagáljon. A B-sejt válasz az idegen és a saját antigének ellen a pozitív és negatív szabályozó rendszerek egyensúlyától függ, a molekulák megváltozott funkciója és expressziója autoimmunitást eredményez.

A közelmúltban a B-sejt homeosztázis számos eltérését figyelték meg szisztémás autoimmun kórképekben, mint például SLE [204,205], Sjögren szindróma [206], rheumatoid arthritis [207] és szisztémás sclerosis [208].

Más autoimmun kórképekhez hasonlóan az MCTD pathomechanizmusában is fontos szerepet játszanak a B-sejtek, azonban a differenciálódás különböző stádiumában lévő perifériás B-sejtek megoszlását MCTD-ben még nem vizsgálták.

Munkánk során elsőként vizsgáltuk a perifériás vér B-sejt alcsoportok megoszlását MCTD-ben. A vizsgált 46 MCTD-s betegből 27 aktív és 19 inaktív szakban volt. Eredményeink károsodott B-sejt homeosztázist igazoltak MCTD-ben.

A perifériás mononukleáris sejtekből CD19 marker pozitivitással azonosítottuk a B-sejteket. Az MCTD-s betegekben százalékos arányban és abszolút sejtszámban is kevesebb CD19+ sejtet mértünk, mint az egészséges kontroll csoportban. Inaktív szakban lévő MCTD-s betegek és a kontroll csoport között nem volt szignifikáns különbség a CD19+ sejtek arányában, amiből arra következtetünk, hogy a B lymphopenia az aktivitással függ össze.

Arce B lymphopeniát észlelt SLE-ben, aminek oka lehet csontvelői prekursorok csökkent száma, vagy fokozott aktiváció és differenciáció memória és plazmasejteké, amik homing révén a limfoid szövetbe vándorolnak [209].

Munkánk során az MCTD-s betegekben megnövekedett tranzicionális (CD27-IgD+CD38^{high}), naív B-sejt és plazmasejt arányt észleltünk.

A perifériás vérben megtalálható legérettebb B-sejt alcsoport a tranzicionális B-sejt. A CD38 az egyik olyan marker, amivel elkülöníthető az éretlen B-sejt a naív B-sejttől. A tranzicionális B-sejt erősen expresszálja a CD38-at, a naív B-sejt pedig nem [210]. Dörner és munkatársai 2011-ben a CD19+CD27-IgD+ sejteket 3 alcsoportra osztotta a CD38 felszíni expresszió alapján [211]. A CD19+CD27-IgD+CD38^{low} naív B-sejtek aránya csökkent, míg a CD19+CD27-IgD+CD38^{int} pre-naív B-sejtek és a CD19+CD27-IgD+CD38^{high} tranzicionális B-sejtek aránya nőtt SLE-ben a kontrollhoz viszonyítva.

A CD27 a TNFR szuperfamília tagja, ami az aktivált T helper sejt felszínén levő CD70-nel interakcióban elősegíti a B-sejt differenciálódást plazmasejtté. Jelenleg a humán B memória sejteket a felszíni CD27 marker alapján azonosítják. A CD27 a germinális centrumban jelenik meg azokon a memória B-sejteken, amelyek szomatikusan hipermutált V gén átrendeződést mutatnak az IgD expresszió után. A CD27/CD70 a B-sejt differenciálódás késői szakában kulcsszignált jelent, hogy a B memória sejtek Ig szekretáló sejtté alakuljanak a germinális centrumban. CD27 memória B-sejtek nincsenek a köldökzsínórvérben, a CD27+ sejtek száma a korral nő. CD27 expresszálódik a T-limfocitákon, mint kostimulátor molekula. A CD27 nem mutatható ki a progenitor B-sejteken, a sIgM-preB-sejten, vagy a naív B-sejten. Az antigénnel való találkozás után a B-sejt aktiváció késői fázisában a memória B-sejteknek magas a CD27 expressziója (CD27+ sejtek), és a plazmasejteken tovább emelkedik a CD27 expresszió (CD27^{high}).

Az izotípusváltás előtti (CD27+IgD+) és a konvencionális memória (CD27+IgD-) 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.

Szignifikáns eltérés volt a CD27^{high} plazmasejtek arányának növekedése MCTD-ben. Továbbá szoros összefüggést találtunk a CD27^{high} plazmasejtek száma és az anti-U1-RNP autoantitest szérumszintje között.

2000-ben Odendahl azt találta, hogy aktív SLE-ben a CD19+CD27+ memória B-sejtek százalékos aránya megnő, míg a naív CD19+CD27- B-sejtek aránya csökken a kontrollhoz képest [212]. A CD19+CD27^{high} plazmasejtek mind százalékosan, mind abszolút számban emelkednek SLE-ben a betegség aktivitásával párhuzamosan.

SLE-s betegek és Sjögren szindrómás betegek szérumában emelkedett a szolubilis CD27, és összefüggést mutat a betegség aktivitásával.

Más szerzők szoros összefüggést találtak SLE-ben a keringő CD27^{high} plazmasejtek és a betegség aktivitása között [148]. A CD27^{high} plazmasejtszám korrelációt mutatott a betegség aktivitásával, és immunszuppresszív terápia hatására arányuk normalizálódott [213].

2007-ben Wei és munkacsoportja a memória B-sejtek egy új csoportjának expanszióját írta le SLE-ben egészséges kontrollhoz képest. Ezen memória B-sejtek CD27 és IgD negatívak, és jelenlétük SLE-ben szignifikánsan összefüggött az aktivitással, a veseérintettséggel és a betegség specifikus autoantitestekkel [148]. Jacobi 2008-ban leírta, hogy a CD27-IgD- B-sejtcsoport valójában heterogén, a sejtcsoporton belül a CD27-IgD-CD95+ B-sejtek aktivált állapotú memória sejtpopulációt képeznek SLE-ben, számuk emelkedett volt aktív betegekben, míg egészséges kontrollban egyáltalán nem voltak jelen [149]. A CD27-IgD- B-sejtek aránya azonban nem mutatott szignifikáns összefüggést az aktivitással, és számuk bakteriális infekciókban is emelkedett volt. A CD27-IgD-CD95+ B-sejtpopuláció egy jól elkülöníthető csoport SLE-ben ami aktivált memória B-sejteket reprezentál.

MCTD-s betegekben a CD27-IgD- kettős negatív B-sejtek aránya 6%-ot is elért, és arányuk tovább emelkedett aktív betegekben.

A kettős negatív B-sejteken CD95 expresszió volt kimutatható, jelenlétük a betegség aktivitásával függött össze.

Az aktív betegekben megvizsgáltuk a B-sejt alcsoportok arányát a kortikoszteroid és immunszuppresszív terápia előtt és azt követően 3 hónappal. Olyan betegeket vizsgáltunk, akik korábban nem voltak immunszuppresszív terápiával kezelve.

A kezelés hatására csökkent a CD27+IgD+ naív B-sejtek aránya, a plazmasejtek aránya, a kettős negatív B-sejtek aránya és abszolút száma, az aktivált kettős negatív (CD27-IgD-CD95+) B-sejtek eltűntek a perifériás vérből.

VII. ÚJ MEGÁLLÍTÁSOK

1. Az MCTD jól meghatározott tünettannal és autoantitesttel rendelkező definitív szisztémás autoimmun kórkép. A betegség túlélése a 20 évvel korábbi adatokhoz képest javulást mutat. A pulmonalis artériás hipertenzió továbbra is vezető halálok maradt MCTD-ben. 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 kimutatásának rendkívül nagy jelentősége van, mivel jelenlétük jórészt meghatározza a szervi eltérések típusát és prognosztikai faktornak is tekinthetők, ami befolyásolja az adekvát terápiát. Eredményeink azt mutatják, hogy az anti-U1-RNP, az endothelsejt elleni antitest és az anti-CL együttese provokálja a legsúlyosabb vascularis eltéréseket, mint a PAH, míg az anti-U1-RNP és az anti-CCP antitest fontos faktor lehet az erozív arthritis kialakulásában. Az immunkomplex képződés és a komplement komponensek jelenléte összefügg az interstitialis tüdőbetegséggel és a myositissel MCTD-ben.
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 Treg sejtszám csökkenés, és a Th1 típusú citokinek magas szérumszintje provokáló tényező lehet az MCTD-ben észlelt immunmediálta hallásvesztés 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 mi írtuk le először, 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 bekövetkeztéhez. 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. MCTD-ben a betegség aktivitásától függően a B-sejt alcsoportok megoszlása eltérő. Aktív MCTD-s betegekben a korai, tranzícionális sejtek, a naív B-sejtek, a plazmasejtek és a kettős negatív B-sejtek aránya megnő. 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.

VIII. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS TÁRGYSZAVAK

A DEOEC Klinikai Immunológiai Tanszékén 1979-2011. között követett 280 MCTD-s beteg túlélése az előzetes saját és az irodalmi adatokhoz képest javulást mutat. A pulmonalis artériás hipertenzió továbbra is vezető halálok MCTD-ben. Új tünetként észleltük az artériás és vénás thrombosisok előfordulását, az antifoszfolipid szindróma társulását MCTD-hez, a követés során egyre gyakoribbá váló cardiovascularis eltéréseket és malignus tumorokat.

MCTD-n belül fenotípusokat tudtunk elkülöníteni a klaszter analízissel végzett vizsgálatainkkal, és a fenotípusok között a prognózisban különbség van. Eredményeink azt mutatják, hogy az anti-U1-RNP, az endothelsejt elleni antitest és az anti-CL együttese provokálja a legsúlyosabb vascularis eltéréseket, míg az anti-U1-RNP és az anti-CCP antitest fontos faktor lehet az erozív arthritis kialakulásában. Az immunkomplex képződés és a komplement komponensek jelenléte összefügg az interstitialis tüdőbetegséggel és a myositissal 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, a proinflammatórikus citokinek magas szérumszintje provokáló tényező lehet MCTD-ben az immunmediálta halláscsökkenés kialakulásában.

MCTD-ben elsőként észleltük a D-vitamin hiány magas előfordulását. Az alacsony D-vitamin szint a hagyományos cardiovascularis rizikófaktorok mellett az autoantitestek és gyulladásos citokin szintek befolyásolása révén is hozzájárulhat az MCTD-s betegekben észlelt cardiovascularis betegségek magas prevalenciájához.

A perifériás vér B-sejt alcsoportjainak megoszlását először vizsgáltuk MCTD-ben. Eredményeink károsodott B-sejt homeosztázist igazoltak. Aktív MCTD-s betegekben a tranzicionális B-sejtek, a naív B-sejtek és a plazmasejtek aránya megnő. Összefüggést találtunk a plazmasejtek és az anti-U1-RNP antitest szérumszintje között MCTD-ben. A B-sejt alcsoportok vizsgálata fontos paraméter lehet az aktivitás megítélésében és monitorozásában MCTD-ben.

Kulcsszavak: kevert kötőszöveti betegség (MCTD), prognózis, kórlefolyás, fenotípus, D-vitamin, autoantitest, B-sejt

SUMMARY

Mixed connective tissue disease (MCTD) is a distinct autoimmune disease syndrome associated with high titer of autoantibodies to ribonucleoprotein.

Our results showed that MCTD is a distinct entity with well-defined clinical symptoms. The probability of survival of patients is better than 20 years ago. Despite the modern treatment, pulmonary arterial hypertension remained the leading cause of death in MCTD. The prevalence of cardiovascular morbidity and mortality, malignancy, and thrombotic events increased during the disease course of MCTD. Pathological inflammatory mechanisms are clearly present in MCTD that can lead to impaired endothelial function. The presence of antiphospholipid antibodies raised the risk of mortality.

Based on our cluster analysis, we assume that the assessment of the autoantibody profile and accurate cataloging of clinical characteristics in MCTD can help to identify prognostic factors and can be indicative of a disease flare and have a pivotal role in survival assessment.

The prevalence of vitamin D deficiency is high in patients with MCTD. Low levels of vitamin D in our patients are associated with endothelial cell dysfunction, inflammatory processes and traditional cardiovascular risk factors. These correlations can explain the high prevalence of cardiovascular morbidity in MCTD.

We have found that pathogenic autoantibodies, decreased levels of regulatory T cells, and overexpression of proinflammatory cytokines may play a role in the pathogenesis of immune mediated inner ear disorder in MCTD.

Our results indicated disturbed peripheral B cell homeostasis in MCTD. B cell abnormalities in MCTD are characterized by elevated numbers of transitional and naive B lymphocytes. The number of CD27^{high} plasma cells are also increased in MCTD and we could identify an association between the number of CD27^{high} plasma cells and the level of anti-U1-RNP autoantibodies. These findings may help to monitor diseases activity and humoral autoimmune processes in patients with MCTD.

Key words: mixed connective tissue disease (MCTD), prognosis, phenotypes, vitamin D, autoantibody, B lymphocytes

IX. 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 hogy 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 megadta számomra a lehetőséget a munka elkészítéséhez.

Köszönöm **Dr. Szodoray Péternek** a PhD munkám során nyújtott szakmai segítségét.

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 **Hódosi Katalinnak** a munka során nyújtott segítségét.

Végezetül köszönöm **Szüleimnek, családomnak, férjemnek** a nélkülözhetetlen segítségét, támogatását.

X. IRODALOMJEGYZÉK

1. Sharp GC, Irvin WS, Tan EM, Gould RG, Holman HR. Mixed connective tissue disease—an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *American Journal of Medicine* 1972;52:148–59.
2. Tan EM. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): their immunobiology and medicine. *Adv Immunol.* 1982;33:167-240.
3. Sharp GC, Anderson PC. Current concepts in the classification of connective tissue diseases. Overlap syndromes and mixed connective tissue disease (MCTD). *J Am Acad Dermatol.* 1980;2(4):269-79.
4. Hathaway D. Mixed connective tissue disease - does it exist? *Minn Med.* 1982; 65(5):295.
5. Lázaro MA, Maldonado Cocco JA, Catoggio LJ, Babini SM, Messina OD, García Morteo O. Clinical and serologic characteristics of patients with overlap syndrome: is mixed connective tissue disease a distinct clinical entity? *Medicine (Baltimore).* 1989;68(1):58-65.
6. Mosca M, Tani C, Carli L, Bombardieri S. Undifferentiated CTD: a wide spectrum of autoimmune diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2012 Feb;26(1):73-7.
7. Jury EC, D'Cruz D, Morrow WJ. Autoantibodies and overlap syndromes in autoimmune rheumatic disease. *J Clin Pathol.* 2001 May;54(5):340-7.
8. Iaccarino L, Gatto M, Bettio S, Caso F, Rampudda M, Zen M, Ghirardello A, Punzi L, Doria A. Overlap connective tissue disease syndromes. *Autoimmun Rev.* 2013 Jan;12(3):363-73.
9. Burdt MA, Hoffman RW, Deutscher SL, Wang GS, Johnson JC, Sharp GC. Long-term outcome in mixed connective tissue disease: longitudinal clinical and serologic findings. *Arthritis and Rheumatism* 1999;42:899–909.
10. Lundberg I. The prognosis of mixed connective tissue disease. *Rheumatic Diseases Clinics of North America's* 2005;31:535–47.
11. Aringer M, Steiner G, Smolen JS. Does mixed connective tissue disease exist? Yes. *Rheum Dis Clin North Am.* 2005 Aug;31(3):411-20.
12. Cappelli S, Bellando Randone S, Martinovi_c D, Tamas MM, Pasali_c K, Allanore Y, et al. "To Be or Not To Be," ten years after: evidence for mixed connective tissue

- disease as a distinct entity. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*; 2012 Feb;41(4):589-98.
13. Lerner MR, Steitz JA. Antibodies to small nuclear RNAs complexed with proteins are produced by patients with systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1979 Nov;76(11):5495-9.
 14. Keith MP, Moratz C, Tsokos GC. Anti-RNP immunity: implications for tissue injury and the pathogenesis of connective tissue disease. *Autoimmun Rev*. 2007 Mar;6(4):232-6.
 15. Pettersson I, Wang G, Smith EI, Wigzell H, Hedfors E, Horn J, Sharp GC. The use of immunoblotting and immunoprecipitation of (U) small nuclear ribonucleoproteins in the analysis of sera of patients with mixed connective tissue disease and systemic lupus erythematosus. A cross-sectional, longitudinal study. *Arthritis Rheum*. 1986 Aug;29(8):986-96.
 16. Sharp GC, Irvin WS, May CM, Holman HR, McDuffie FC, Hess EV, et al. Association of antibodies to ribonucleoprotein and Sm antigens with mixed connective-tissue disease, systemic lupus Erythematosus and other rheumatic diseases. *New England Journal of Medicine* 1976;295:1149–54.7
 17. Tokano Y, Yasuma M, Harada S, Takasaki Y, Hashimoto H, Okumura K, et al. Clinical significance of IgG subclasses of Anti-Sm and U1 ribonucleoprotein antibodies in patients with systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease. *Journal of Clinical Immunology* 1991;11:317–25.
 18. Genth E, Zarnowski H, Mierau R, Wohltmann D, Hartl PW. HLA-DR4 and Gm(1,3;5,21) are associated with U1-nRNP antibody positive connective tissue disease. *Ann Rheum Dis*. 1987 Mar;46(3):189-96.
 19. Black CM, Maddison PJ, Welsh KI, Bernstein R, Woodrow JC, Pereira RS. HLA and immunoglobulin allotypes in mixed connective tissue disease. *Arthritis Rheum*. 1988 Jan;31(1):131-4.
 20. Hoffman RW, Rettenmaier LJ, Takeda Y, Hewett JE, Pettersson I, Nyman U, Luger AM, Sharp GC. Human autoantibodies against the 70-kd polypeptide of U1 small nuclear RNP are associated with HLA-DR4 among connective tissue disease patients. *Arthritis Rheum*. 1990 May;33(5):666-73.
 21. Hämeenkorpi R, Ruuska P, Forsberg S, Tiilikainen R, Mäkitalo R, Hakala M. More evidence of distinctive features of mixed connective tissue disease. *Scand J Rheumatol*. 1993;22(2):63-8.

22. Kuwana M, Okano Y, Kaburaki J, Inoko H. Clinical correlations with HLA type in Japanese patients with connective tissue disease and anti-U1 small nuclear RNP antibodies. *Arthritis Rheum.* 1996 Jun;39(6):938-42.
23. Wolff-Vorbeck G, Hackl W, Fenning S, Krawinkel U, Lührmann R, Peter HH, Schlesier M. Characterization of an HLA-DR4-restricted T cell clone recognizing a protein moiety of small nuclear ribonucleoproteins (UsnRNP). *Clin Exp Immunol.* 1994 Mar;95(3):378-84.
24. Hoffman RW, Sharp GC, Deutscher SL. Analysis of anti-U1 RNA antibodies in patients with connective tissue disease. Association with HLA and clinical manifestations of disease. *Arthritis Rheum.* 1995 Dec;38(12):1837-44.
25. Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S. Anti-Sm and anti-RNP antibodies. *Autoimmunity.* 2005 Feb;38(1):47-54.
26. Okubo M, Yamamoto K, Kato T, Matsuura N, Nishimaki T, Kasukawa R, Ito K, Mizushima Y, Nishioka K. Detection and epitope analysis of autoantigen-reactive T cells to the U1-small nuclear ribonucleoprotein A protein in autoimmune disease patients. *J Immunol.* 1993 Jul 15;151(2):1108-15.
27. Holyst MM, Hill DL, Hoch SO, Hoffman RW. Analysis of human T cell and B cell responses against U small nuclear ribonucleoprotein 70-kd, B, and D polypeptides among patients with systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease. *Arthritis Rheum.* 1997 Aug;40(8):1493-503.
28. Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J Exp Med.* 1994 Apr 1;179(4):1317-30.
29. Greidinger EL, Foecking MF, Ranatunga S, Hoffman RW. Apoptotic U1-70 kd is antigenically distinct from the intact form of the U1-70-kd molecule. *Arthritis Rheum.* 2002 May;46(5):1264-9.
30. Greidinger EL, Hoffman RW. The appearance of U1 RNP antibody specificities in sequential autoimmune human antisera follows a characteristic order that implicates the U1-70 kd and B'/B proteins as predominant U1 RNP immunogens. *Arthritis Rheum.* 2001 Feb;44(2):368-75.
31. Monneaux F, Muller S. Epitope spreading in systemic lupus erythematosus: identification of triggering peptide sequences. *Arthritis Rheum.* 2002 Jun;46(6):1430-8.

32. Mamula MJ. Epitope spreading: the role of self peptides and autoantigen processing by B lymphocytes. *Immunol Rev.* 1998 Aug;164:231-9.
33. Greidinger EL, Foecking MF, Magee J, Wilson L, Ranatunga S, Ortmann RA, Hoffman RW. A major B cell epitope present on the apoptotic but not the intact form of the U1-70-kDa ribonucleoprotein autoantigen. *J Immunol.* 2004 Jan 1;172(1):709-16.
34. Hoffman RW, Maldonado ME. Immune pathogenesis of Mixed Connective Tissue Disease: a short analytical review. *Clin Immunol.* 2008 Jul;128(1):8-17.
35. Hassan AB, Nikitina-Zake L, Padyukov L, Karlsson G, Gupta M, Lundberg IE, et al. MICA4/HLA-DRB1*04/TNF1 haplotype is associated with mixed connective tissue disease in Swedish patients. *Human Immunology* 2003;64:290–6.
36. Gendi NS, Welsh KI, Van Venrooij WJ, Vancheeswaran R, Gilroy J, Black CM. HLA type as a predictor of mixed connective tissue disease differentiation. Ten-year clinical and immunogenetic followup of 46 patients. *Arthritis Rheum.* 1995 Feb;38(2):259-66.
37. Kaneoka H, Hsu KC, Takeda Y, Sharp GC, Hoffman RW. Molecular genetic analysis of HLA-DR and HLA-DQ genes among anti-U1-70-kd autoantibody positive connective tissue disease patients. *Arthritis and Rheumatism* 1992;35:83–94.
38. Dong RP, Kimura A, Hashimoto H, Akizuki M, Nishimura Y, Sasazuki T. Difference in HLA-linked genetic background between mixed connective tissue disease and systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens.* 1993 Jan;41(1):20-5.
39. Scherak O, Smolen JS, Mayr WR. HLA-DRw3 and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1980 Aug;23(8):954-7.
40. Miller FW. Humoral immunity and immunogenetics in the idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol.* 1991 Dec;3(6):902-10.
41. Shamim EA, Rider LG, Miller FW. Update on the genetics of the idiopathic inflammatory myopathies. *Current Opinion in Rheumatology* 2000;12:482–91.
42. Reveille JD, Durban E, MacLeod-St Clair MJ, Goldstein R, Moreda R, Altman RD, Arnett F. Association of amino acid sequences in the HLA-DQB1 first domain with antitopoisomerase I autoantibody response in systemic sclerosis (progressive systemic sclerosis). *J Clin Invest* 1992;90:973.
43. Sullivan WD, Hurst DJ, Harmon CE, Esther JH, Agia GA, Maltby JD, et al. A prospective evaluation emphasizing pulmonary involvement in patients with mixed connective tissue disease. *Medicine (Baltimore)* 1984;63:92–107.

44. Gunnarsson R, Molberg O, Gilboe IM, Gran JT. The prevalence and incidence of mixed connective tissue disease: a national multicentre survey of Norwegian patients. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jun;70(6):1047-51.
45. Bennett RM, O'Connell DJ. The arthritis of mixed connective tissue disease. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1987;37: 397–403.
46. Ramos-Niembro F, Alarcon-Segovia D, Hernandez-Ortiz J. Articular manifestations of mixed connective tissue disease. *Arthritis and Rheumatism* 1979;22:43–51.
47. Bennett RM, O'Connell DJ. Mixed connective tissue disease: a clinicopathological study of 20 cases. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 1980;10:25–51.
48. O'Connell DJ, Bennett RM. Mixed connective tissue disease - clinical and radiological aspects of 20 cases. *British Journal of Radiology* 1977;50:620–5.
49. Oxenhandler R, Hart M, Corman L, Sharp G, Adelstein E. Pathology of skeletal muscle in mixed connective tissue disease. *Arthritis and Rheumatism* 1977;20:985–8.
50. Hall S, Hanrahan P. Muscle involvement in mixed connective tissue disease. *Rheum Dis Clin N Am*. 2005; 31:509-517.
51. Coppo P, Clauvel JP, Bengoufa D et al. Inflammatory myositis associated with anti-U1-small nuclear ribonucleoprotein antibodies: a subset of myositis associated with a favourable outcome. *Rheumatol* 2002; 41:1040-6.
52. Lundberg I, Nennesmo I, Hedfors E. A clinical, serological and histopathological study of myositis patients with and without anti-RNP antibodies. *Semin Arthritis Rheum* 1992; 22:127-38.
53. Vianna MAAG, Borges CTL, Borba EF, et al. Myositis in mixed connective tissue disease: a unique syndrome characterized by immunohistopathological elements of both polymyositis and dermatomyositis. *Arq Neuropsiquiatr* 2004; 62:923-34.
54. Nimelstein SH, Brody S, McShane D, Holman HR. Mixed connective tissue disease: a subsequent evaluation of the original 25 patients. *Medicine (Baltimore)* 1980;59:239–48.
55. Grader-Beck T, Wigley FM. Raynaud's phenomenon in mixed connective tissue disease. *Rheum Dis Clin North Am*. 2005 Aug;31(3):465-81, vi.
56. de Holanda Mafaldo Diógenes A, Bonfá E, Fuller R, Correia Caleiro MT. Capillaroscopy is a dynamic process in mixed connective tissue disease. *Lupus*. 2007;16(4):254-8.

57. Lambova SN, Müller-Ladner U. Capillaroscopic pattern in systemic lupus erythematosus and undifferentiated connective tissue disease: what we still have to learn? *Rheumatol Int.* 2013 Mar;33(3):689-95.
58. Granier F, Vayssairat M, Priollet P, Housset E. Nailfold capillary microscopy in mixed connective tissue disease. Comparison with systemic sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1986 Feb;29(2):189-95.
59. Baurle G, Hornstein OP. Generalized cutaneous calcinosis and mixed connective tissue disease. *Dermatologica.* 1979;158(4):257-68.
60. Bull TM, Fagan KA, Badesch DB. Pulmonary vascular manifestations mixed connective tissue disease. *Rheum Dis Clin North Am.* 31(3): 451-64. 2005.
61. Prakash UBS. Pulmonary manifestations in mixed connective tissue disease. *Semin Resp Med* 1988;9:318-24.
62. Alpert MA, Goldberg SH, Singsen BH, Durham JB, Sharp GC, Ahmad M, et al. Cardiovascular manifestations of mixed connective tissue disease in adults. *Circulation* 1983;68:1182–93.
63. Végh J., Csipő I., Udvardy M., Kappelmayer J., Lakos G., Aleksza M., Zeher M., Szegedi G., Bodolay E.: A pulmonalis artériás hipertenzió kórlefolyása, klinikai és immunszerológiai jellemzői kevert kötőszöveti betegségben. *Magyar Immunol* 5 (2), 37-48., 2006.
64. Bodolay E, Szekanecz Z, Dévényi K, Galuska L, Csipő I, Végh J et al. Evaluation of interstitial lung disease in mixed connective tissue disease (MCTD). *Rheumatol* 2005;44:656-61.
65. Kozuka T, Johkoh T, Honda O, Mihara N, Koyama M, Tomiyama N et al. Pulmonary Involvement in Mixed Connective Tissue Disease. High-resolution CT findings in 41 Patients. *J Thor Imaging* 2001;16:94-8.
66. Lundberg IE. Cardiac involvement in autoimmune myositis and mixed connective tissue disease. *Lupus* 2005;14:708–12.
67. Dropiński J, Szczeklik W, Rubiś P. Cardiac involvement in systemic autoimmune disease. *Pol Arch Med Wewn.* 2003 Apr;109(4):375-81.
68. Kumar MS, Smith M, Pischel KD. Case report and review of cardiac tamponade in mixed connective tissue disease. *Arthritis Rheum.* 2006 Oct;55(5):826-30.
69. Bezerra MC, Saraiva F Jr, Carvalho JF, Caleiro MT, Gonçalves CR, Borba EF. Cardiac tamponade due to massive pericardial effusion in mixed connective tissue disease: reversal with steroid therapy. *Lupus.* 2004;13(8):618-20.

70. Langley RL, Treadwell EL. Cardiac tamponade and pericardial disorders in connective tissue diseases: case report and literature review. *J Natl Med Assoc.* 1994 Feb;86(2):149-53.
71. Nunoda S, Mifune J, Ono S, Nakayama A, Hifumi S, Shimizu M, Takahashi Y, Tanaka T. An adult case of mixed connective tissue disease associated with perimyocarditis and massive pericardial effusion. *Jpn Heart J.* 1986 Jan;27(1):129-35.
72. Lash AD, Wittman AL, Quismorio Jr FP. Myocarditis in mixed connective tissue disease: clinical and pathologic study of three cases and review of the literature. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 1986;15:288–96.
73. Schwagten B, Verheye S, Van den Heuvel P. Combined systolic and diastolic heart failure as the first presentation of mixed connective tissue disease. *Acta Cardiol.* 2007 Aug;62(4):421-3.
74. Hammann C, Genton CY, Delabays A, Bischoff Delaloye A, Bogousslavsky J, Spertini F. Myocarditis of mixed connective tissue disease: favourable outcome after intravenous pulsed cyclophosphamide. *Clin Rheumatol.* 1999;18(1):85-7.
75. Marshall JB, Kretschmar JM, Gerhardt DC, Winship DH, Winn D, Treadwell EL, et al. Gastrointestinal manifestations of mixed connective tissue disease. *Gastroenterology* 1990;98:1232–8.
76. Gutierrez F, Valenzuela JE, Ehresmann GR, Quismorio FP, Kitridou RC. Esophageal dysfunction in patients with mixed connective tissue diseases and systemic lupus erythematosus. *Digestive Diseases and Sciences* 1982;27:592–7.
77. Doria A, Bonavina L, Anselmino M, Ruffatti A, Favaretto M, Gambari P, et al. Esophageal involvement in mixed connective tissue disease. *Journal of Rheumatology* 1991;18:685–90.
78. Wang S.J., Lan J.L., Chen D.Y., Hsieh T.Y., Lin W.Y. Solid phase radionuclide esophageal transit in mixed connective tissue disease. *Abdom. Imaging.* 2002; 27: 6-8.
79. Fagundes MN, Caleiro MT, Navarro-Rodriguez T, Baldi BG, Kavakama J, Salge JM, et al. Esophageal involvement and interstitial lung disease in mixed connective tissue disease. *Respiratory Medicine* 2009;103:854–60.
80. Matsumoto T, Kobayashi S, Shimizu H, Nakajima M, Watanabe S, Kitami N, Sato N, Abe H, Aoki Y, Hoshi T, Hashimoto H. The liver in collagen diseases: pathologic study of 160 cases with particular reference to hepatic arteritis, primary biliary cirrhosis, autoimmune hepatitis and nodular regenerative hyperplasia of the liver. *Liver.* 2000 Oct;20(5):366-73.

81. Kmiecik Le Corguillé M, Rocher P, Eugène C, Lemaire E, Tennenbaum R, Vitte RL, Bergue A. Autoimmune hepatitis, acute pancreatitis, mixed connective tissue disease and Sjögren's syndrome. A case report. *Gastroenterol Clin Biol*. 2003 Aug-Sep;27(8-9):840-1.
82. Furuya T, Suzuki T, Onoda N, Tamura K, Sato K, Demura H, et al. Mixed connective tissue disease associated with protein losing enteropathy: successful treatment with intravenous cyclophosphamide therapy. *Internal Medicine* 1992;31:1359–62.
83. Hirose W, Nakane H, Misumi J, Sugi T, Hara M, Kawagoe M, Nakamura H. Duodenal hemorrhage and dermal vasculitis associated with mixed connective tissue disease. *J Rheumatol*. 1993 Jan;20(1):151-4.
84. Cooke CL, Lurie HI. Case report: fatal gastrointestinal hemorrhage in mixed connective tissue disease. *Arthritis and Rheumatism* 1977;20:1421–7.
85. Kitridou RC, Akmal M, Turkel SB, Ehresmann GR, Quismorio Jr FP, Massry SG. Renal involvement in mixed connective tissue disease: a longitudinal clinicopathologic study. *Seminar Arthritis and Rheumatism* 1986;16:135–45.
86. Sawai T, Murakami K, Kurasono Y. Morphometric analysis of the kidney lesions in mixed connective tissue disease (MCTD). *Tohoku J Exp Med*. 1994 Oct;174(2):141-54.
87. Kobayashi S, Nagase M, Kimura M, Ohyama K, Ikeya M, Honda N. Renal involvement in mixed connective tissue disease. Report of 5 cases. *American Journal of Nephrology* 1985;5:282–9.
88. Bennett RM, Spargo BH. Immune complex nephropathy in mixed connective tissue disease. *American Journal of Medicine* 1977;63:534–41.
89. Ito S, Nakamura T, Kurosawa R, Miyamae T, Imagawa T, Mori M, et al. Glomerulonephritis in children with mixed connective tissue disease. *Clinical Nephrology* 2006;66:160–5.
90. Yamaguchi T, Ohshima S, Tanaka T, Tsukada S, Matsushita M, Kohmo S, Kanzaki T, Saeki Y. Renal crisis due to intimal hyperplasia in a patient with mixed connective tissue disease (MCTD) accompanied by pulmonary hypertension. *Intern Med*. 2001 Dec;40(12):1250-3.
91. Hojaili B, Barland P. Trigeminal neuralgia as the first manifestation of mixed connective tissue disorder. *Journal of Clinical Rheumatology* 2006;12:145–7.

92. Karmacharya P, Mainali NR, Aryal MR, Lloyd B. Recurrent case of ibuprofen-induced aseptic meningitis in mixed connective tissue disease. *BMJ Case Rep.* 2013 Apr 30;2013. pii: bcr2013009571.
93. Sato T, Fujii T, Yokoyama T, Fujita Y, Imura Y, Yukawa N, et al. Anti-U1 RNP antibodies in cerebrospinal fluid are associated with central neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease. *Arthritis and Rheumatism* 2010;62:3730–40.
94. Graf WD, Milstein JM, Sherry DD. Stroke and mixed connective tissue disease. *Journal of Child Neurology* 1993;8:256–9.
95. Bhinder S, Harbour K, Majithia V. Transverse myelitis, a rare neurological manifestation of mixed connective tissue disease—a case report and a review of literature. *Clinical Rheumatology* 2007;26:445–7.
96. Weatherby SJ, Davies MB, Hawkins CP, Haq N, Dawes P. Transverse myelopathy, a rare complication of mixed connective tissue disease: comparison with SLE related transverse myelopathy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 2000;68:532–3.
97. Mimura T, Usui T, Amano S, Yamagami S, Ono K, Noma H, et al. Retinal vasculitis and vitreous hemorrhage associated with mixed connective tissue disease: retinal vasculitis in MCTD. *International Ophthalmology* 2005;26:159–61.
98. Dessein PH, Lamparelli RD, Phillips SA, Rubenchik IA, Zwi S. Severe immune thrombocytopenia and the development of skin infarctions in a patient with an overlap syndrome. *J Rheumatol.* 1989 Nov;16(11):1494-6.
99. Fortin MT, Lovy MR, Hughes GR. Severe thrombocytopenia in an adult patient with mixed connective tissue disease. *J Rheumatol.* 1982 Jul-Aug;9(4):597-8.
100. Poullin P, Lefevre P, Durand JM. Mixed connective tissue disease with hemolytic anemia and severe thrombocytopenia due to thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol.* 1999 Aug;61(4):275
101. ter Borg EJ, Houtman PM, Kallenberg CG, van Leeuwen MA, van Rÿswijk MH. Thrombocytopenia and hemolytic anemia in a patient with mixed connective tissue disease due to thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Rheumatol.* 1988 Jul;15(7):1174-7.
102. Paice EW, Snaith ML. Thrombotic thrombocytopenic purpura occurring in a patient with mixed connective tissue disease. *Rheumatol Int.* 1984;4(3):141-2.

103. Souto Filho JT, de Barros PV, da Silva AM, Barbosa FA, Ribas GF. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with mixed connective tissue disease: a case report. *Case Rep Med*. 2011;2011:953890. doi: 10.1155/2011/953890.
104. Baron BW, Martin MS, Sucharetza BS, Jeon H, Baron JM. Four patients with both thrombotic thrombocytopenic purpura and autoimmune thrombocytopenic purpura: the concept of a mixed immune thrombocytopenia syndrome and indications for plasma exchange. *J Clin Apher*. 2001;16(4):179-85.
105. Suzuki E, Kanno T, Asano T, Tsutsumi A, Kobayashi H, Watanabe H, Ohira H. Two cases of mixed connective tissue disease complicated with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Fukushima J Med Sci*. 2013;59(1):49-55.
106. Kato A, Suzuki Y, Fujigaki Y, Yamamoto T, Yonemura K, Miyajima H, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with mixed connective tissue disease. *Rheumatology International* 2002;22:122–5.
107. Julkunen H, Jäntti J, Pettersson T. Pure red cell aplasia in mixed connective tissue disease. *Journal of Rheumatology* 1989; 16:1385–6.
108. Ueda N, Mimura K, Maeda H, Sugiyama T, Kado T, Kobayashi K, Fukuzaki H. Mixed connective tissue disease with fatal pulmonary hypertension and a review of literature. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1984;404(4):335-40.
109. Hosoda Y, Suzuki Y, Takano M, Tojo T, Homma M. Mixed connective tissue disease with pulmonary hypertension: a clinical and pathological study. *J Rheumatol*. 1987 Aug;14(4):826-30.
110. Takasaki Y, Yamanaka K, Takasaki C, Matsushita M, Yamada H, Nawata M, Matsudaira R, Ikeda K, Kaneda K, Hashimoto H. Anticyclic citrullinated peptide antibodies in patients with mixed connective tissue disease. 2004;14(5):367-75.
111. Yin G, Cen XM, Yang M, Xie QB. [Detecting anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with connective tissue diseases]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2011 May;42(3):374-7.
112. Komatireddy G.R., Wang G.S., Sharp G.C., Hoffman R.W. (1997) Antiphospholipid antibodies among anti-U1-70 kDa autoantibody positive patients with mixed connective tissue disease. *J. Rheumatol*. 24: 319-22.
113. Doria A, Ruffatti A, Calligaro A, Del Ross T, Ghirardello A, De Zambiasi P, et al. Antiphospholipid antibodies in mixed connective tissue disease. *Clinical Rheumatology* 1992;11:48–50.

114. Hasegawa EM, Caleiro MT, Fuller R, Carvalho JF. The frequency of anti-beta2-glycoprotein I antibodies is low and these antibodies are associated with pulmonary hypertension in mixed connective tissue disease. *Lupus*. 2009 Jun;18(7):618-21.
115. Sasaki N, Kurose A, Inoue H, Sawai T. A possible role of anti-endothelial cell antibody in the sera of MCTD patients on pulmonary vascular damage relating to pulmonary hypertension]. *Ryumachi*. 2002 Dec;42(6):885-94.
116. Bodolay E, Csipo I, Gál I, Sipka S, Gyimesi E, Szekanecz Z, et al. Anti-endothelial cell antibodies in mixed connective tissue disease: frequency and association with clinical symptoms. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2004;22:409–15.
117. Hoffman RW, Greidinger EL. Mixed connective tissue disease. *Curr Opin Rheumatol*. 2000 Sep;12(5):386-90.
118. Takahashi Y, Haga S, Ishizaka Y, Mimori A. Autoantibodies to angiotensin-converting enzyme 2 in patients with connective tissue diseases. *Arthritis Research & Therapy* 2010;12:R85.
119. Alarcón-Segovia D, Villarreal M. Classification and diagnostic criteria for mixed connective tissue disease. In: Kasukawa R, Sharp GC, editors. *Mixed connective tissue disease and antinuclear antibodies*. Amsterdam: Elsevier; 1987. p. 33–40.
120. Kasukawa R, Tojo T, Miyawaki S. Preliminary diagnostic criteria for classification of mixed connective tissue disease. In: Kasukawa R, Sharp G, editors. *Mixed connective tissue disease and antinuclear antibodies*. Amsterdam: Elsevier; 1987. p. 41–7.
121. Sharp GC. Diagnostic criteria for classification of of MCTD. In: Kasukawa R, Sharp GC, editors. *Mixed connective tissue diseases and antinuclear antibodies*. Amsterdam: Elsevier; 1987. p. 23–32.
122. Kahn MF, Appelboom T. Syndrom de Sharp. In: Kahn MF, Peltier AP, Meyer O, Piette JC, editors. *Les maladies systemiques*. 3rd Ed. Paris: Flammarion; 1991. p. 545–56.
123. Alarcón-Segovia D, Cardiel MH. Comparison between 3 diagnostic criteria for mixed connective tissue disease. Study of 593 patients. *J Rheumatol*. 1989 Mar;16(3):328-34
124. Amigues JM, Cantagrel A, Abbal M, Mazieres B. Comparative study of 4 diagnosis criteria sets for mixed connective tissue disease in patients with anti-RNP antibodies. Autoimmunity Group of the Hospitals of Toulouse. *Journal of Rheumatology* 1996;23:2055–62.

125. Michels H. Course of mixed connective tissue disease in children. *Ann Med.* 1997 Oct;29(5):359-64.
126. Gaál J, Varga J, Szabados L, Garai I, Galuska L, Surányi P, Szegedi A, Zeher M, Bodolay E. High prevalence of oesophageal involvement in patients with undifferentiated connective tissue disease using radionuclide oesophageal transit scintigraphy. *Nucl Med Commun.* 2005 Dec;26(12):1113-7.
127. Dévényi K, Czirják L. High resolution computed tomography for the evaluation of lung involvement in 101 patients with scleroderma. *Clin Rheumatol.* 1995 Nov;14(6):633-40.
128. Wells AU. High-resolution computed tomography in the diagnosis of diffuse lung disease: a clinical perspective. *Semin Respir Crit Care Med.* 2003 Aug;24(4):347-56.
129. Lu Y, Genant HK, Shepherd J et al. Classification of osteoporosis based on bone mineral densities. *J Bone Miner Res.* 2001;16:901-10.
130. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost.* 2006;4:295-6.
131. Maldonado ME, Perez M, Pignac-Kobinger J, Marx ET, Tozman EM, Greidinger EL, Hoffman RW. Clinical and immunologic manifestations of mixed connective tissue disease in a Miami population compared to a Midwestern US Caucasian population. *J Rheumatol.* 2008 Mar;35(3):429-37.
132. Benito-Garcia E, Schur PH, Lahita R Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-Sm and anti-RNP antibody tests. *Arthritis Rheum.* 2004 Dec 15;51(6):1030-44.
133. Bodolay E, Csipő I, Sipka S, Gyimesi E, Szekanecz Z, Szegedi G. Anti-endothelial cell antibodies in mixed connective tissue disease: frequency and association with clinical symptoms. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2004;22: 409-415.
134. Vieth R, Bischoff-Ferrari H, Boucher BJ, Dawson-Hughes B, Garland CF, Heaney RP, Holick MF, Hollis BW, Lamberg-Allardt C, McGrath JJ, Norman AW, Scragg R, Whiting SJ, Willett WC, Zittermann A. The urgent need to recommend an intake of vitamin D that is effective. *Am J Clin Nutr.* 2007;85: 649-50.
135. Penna D, Adorini L. Alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol* 2000; 164:2405-11.

136. van Etten E, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;97: 93-101.
137. Daniel C, Sartory NA, Zahn N, Radeke HH, Stein JM. Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with a change of a T helper (Th) 1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008;324:23-33.
138. Littorin B, Blom P, Schölin A, Arnqvist HJ, Blohmé G, Bolinder J, EkbomSchnell A, Eriksson JW, Gudbjörnsdóttir S, Nyström L, Östman J, Sundkvist G. Lower levels of plasma 25-hydroxyvitamin D among young adults at diagnosis of autoimmune type 1 diabetes compared with control subjects: results from nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS). *Diabetologia* 2006;49: 2847-2852.
139. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Rev.* 2006;5:114-7.
140. Cutolo M, Otsa K, Uprus M, Paolino S, Serio B. Vitamin D in rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Rev.* 2007; 7:59-64.
141. Amital H, Szekanecz Z, Szücs G, Dankó K, Nagy E, Csépany T, Kiss E, Rovinsky J, Tuchynova A, Kozakova D, Doria A, Corocher N, Agmon-Levin N, Barak V, Orbach H, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. Serum concentrations of 25-OH vitamin D in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) are inversely related to disease activity: is it time to routinely supplement patients with SLE with vitamin D? *Ann Rheum Dis.* 2010 Jun;69(6):1155-7.
142. Anderson JL, May HT, Horne BD, Bair TL, Hall NL, Carlquist JF, Lappé DL, Muhlestein JB. Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am J Cardiol.* 2010 Oct 1;106(7):963-8.
143. Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD, Bischoff-Ferrari HA, Tworoger SS, Willett WC, Curhan GC. Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension. *Hypertension.* 2007;49(5):1063-9.
144. Karhapää P, Pihlajamäki J, Pörsti I, Kastarinen M, Mustonen J, Niemelä O, Kuusisto J. Diverse associations of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxy-vitamin D with dyslipidaemias. *J Intern Med.* 2010;268(6):604-10.

145. Pittas AG, Sun Q, Manson JE, Dawson-Hughes B, Hu FB. Plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and risk of incident type 2 diabetes in women. *Diabetes Care*. 2010;33(9):2021-3.
146. Pilz S, Tomaschitz A, Drechsler C, Dekker JM, März W. Vitamin D deficiency and myocardial diseases. *Mol Nutr Food Res*. 2010;54(8):1103-13.
147. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, Benjamin EJ, D'Agostino RB, Wolf M, Vasan RS. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 2008;117(4):503-11.
148. Wei C, Anolik J, Cappione A, Zheng B, Pugh-Bernard A, Brooks J, Lee EJ, Milner EC, Sanz I. A new population of cells lacking expression of CD27 represents a notable component of the B cell memory compartment in systemic lupus erythematosus, *J. Immunol*. 2007;178:6624-6633.
149. Jacobi AM, Reiter K, Mackay M, Aranow C, Hiepe F, Radbruch A, Hansen A, Burmester GR, Diamond B, Lipsky PE, Dörner T. Activated memory B cell subsets correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus: delineation by expression of CD27, IgD, and CD95. *Arthritis Rheum*. 2008;58:1762-1773.
150. Bodolay E, Gaál J, Végh J, Soltész P, Szodoray P, Lakos G et al. Túlélés kevert kötőszöveti betegségben (MCTD). *Orv Hetil* 2002;143:2543-8.
151. Miyawaki S, Onodera H. Clinical course and prognosis of patients with mixed connective tissue disease. In: Kasukawa R, Sharp GC editors, *Mixed connective tissue disease and anti-nuclear antibodies*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division) 1987:331-6.
152. Bodolay E, Seres I, Szodoray P, Csipő I, Jakab Z, Végh J, Szilágyi A, Szegedi G, Paragh G. Evaluation of paraoxonase (PON) activity in patients with mixed connective tissue disease. *J Rheumatol*. 2008; 35:237-43.
153. Soltész P, Bereczki D, Szodoray P, Magyar TM, Der H, Csipő I, Hajas A, Paragh G, Szegedi G, Bodolay E. Endothelial cell markers reflecting endothelial cell dysfunction in patients with mixed connective tissue disease. *Arthritis Research & Therapy*, 2010, 12:R78.
154. Lin YC, Wu CC, Ou TT, Yen JH, Liu HW, Tsai WC. Malignant thymoma associated with mixed connective tissue disease: a case report. *Clin Rheumatol* 2006;25:262-4.

155. Fujiwara H, Nakamura D, Kukita T, Hamada H, Ozaki A, Matsushita K et al. Immunosuppressive treatment for mixed connective tissue disease may facilitate the development of adult T cell leukemia/lymphoma in a HTLV-I carrier. *Intern Med* 2006;45:297-301.
156. Szekanecz E, Szamosi Sz, Horvath A, Németh Á, Juhász B, Szántó J, Szücs G, Szekanecz Z. Malignancies associated with systemic sclerosis. *Autoimmunity Reviews* 2012;11:852-855.
157. Kiss E, Kovacs L, Szodoray P. Malignancies in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Reviews* 2010;9:195-199.
158. Miyata M, Kida S, Kanno T, Suzuki K, Watanabe H, Kaise S, Nishimaki T, Hosoda Y, Kasukawa R. Pulmonary hypertension in MCTD: report of two cases with anticardiolipin antibody. *Clin. Rheumatol.* 1992;11: 195-201.
159. Okawa-Takatsuji M, Aozsuka S, Uwatoko S, Takaono M, Iwasaki K, Kinoshita M, Sumiya M. Endothelial cell-binding activity of anti-U1-ribonucleoprotein antibodies in patients with connective tissue disease. *Clin. Cell. Immunol.* 2001;126: 345-354.
160. Vegh J, Szodoray P, Kappelmayer J, Csipo I, Udvardy M, Lakos G, Aleksza M, Soltesz P, Szilágyi A, Zeher M, Szegedi G, Bodolay E. Clinical and immunoserological characteristics of mixed connective tissue disease (MCTD) associated with pulmonary arterial hypertension (PAH). *Scand. J. Immunol.* 2006;64:69-76.
161. Aringer M, Smolen JS. Mixed connective tissue disease: what is behind the curtain? *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2007;21:1037-49.
162. Del Papa N, Sheng YH, Raschi E, Kandiah DA, Tincani A, Khamashta MA, Atsumi T, Hughes GR, Ichikawa K, Koike T, Balestrieri G, Krilis SA, Meroni PL. Human beta 2-glycoprotein I binds to endothelial cells through a cluster of lysine residues that are critical for anionic phospholipid binding and offers epitopes for anti-beta 2-glycoprotein I antibodies. *J Immunol.* 1998 Jun 1;160(11):5572-8.
163. Piirainen HI. Patients with arthritis and anti-U1-RNP antibodies: a 10-year follow-up. *Br J Rheumatol* 1990;29:345-8.
164. Karatas E, Onat AM, Durucu C, Baglam T, Kanklikama M. Audiovestibular disturbance in patients with systemic lupus erythematosus. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2007;136: 82-6.

165. Kastanioudakis I, Ziavra N, Politi EN, Exarchakos G, Drosos AA, Skevas A. Hearing loss in progressive systemic sclerosis patients: a comparative Study. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2001;124: 522-5.
166. Kempf HG. Ear involvement in Wegener's granulomatosis. *Clin. Otolaryngol. Allied Sci.* 1989;14: 451-6.
167. Kumar BN, Smith MSH, Walsh RM. Sensorineural hearing loss in ulcerative colitis. *Clin. Otolaryngol.* 2000;25: 143-5.
168. McCaffrey TV, McDonald TJ, Facer GW, DeRemee RA. Otologic manifestations of Wegener's granulomatosis. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 1980;88: 586-93.
169. Naarendorp M, Spiera H. Sudden sensorineural hearing loss in patients with systemic lupus erythematosus or lupus-like syndromes and antiphospholipid antibodies. *J. Rheumatol.* 1998;25: 589-592.
170. Mouadeb DA, Ruckenstein MJ. Antiphospholipid inner ear syndrome. *Laryngoscope.* 2005;115: 879-83.
171. Bachmeyer C, Leclerc-Landgraf N, Laurete F. Acute autoimmune sensorineural hearing loss associated with Crohn's disease. *Am. J. Gastroenterol.* 1988;93: 2565-2567.
172. Tsunoda K, Akaogi J, Ohya N, Murofushi T. Sensorineural hearing loss as the initial manifestation of polyarteritis nodosa. *J. Laryngol. Otol.* 2001;115 (4): 311-312.
173. Tumiatì B, Casoli P, Parmeggiani A. Hearing loss in the Sjogren syndrome. *Ann. Intern. Med.* 1997;126: 450-453.
174. Gomides AP, do Rosário EJ, Borges HM, Gomides HH, de Pádua PM, Sampaio-Barros PD. Sensorineural dysacusis in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2007;16: 987-90.
175. Casoli P, Tumiatì B. Cogan's syndrome: a new possible complication of antiphospholipid antibodies? *Clin. Rheumatol.* 1995;14: 197-198.
176. Hisashi K, Komune S, Taira T, Uemura T, Sadoshima S, Tsuda H. Anticardiolipin antibody-induced sudden profound sensorineural hearing loss. *Am. J. Otolaryngol.* 1993;14: 275-277.
177. Toubi E, Ben-David J, Kessel A, Halas K, Sabo E, Luntz M. Immune-mediated disorders with idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2004;113: 44-59.

178. Baráth S, Sipka S, Aleksza M, Szegedi A, Szodoray P, Végh J, Szegedi G, Bodolay E. Regulatory T cells in peripheral blood of patients with mixed connective tissue disease. *Scand. J. Rheumatol.* 2006;35: 300-4.
179. Xia M, Zhang HB, Liu F, Yin HY, Xu AT. Impaired CD4(+)CD25(+) regulatory T cell activity in the peripheral blood of patients with autoimmune sensorineural hearing loss. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2008;265: 1027-33
180. Frostegard J. Autoimmunity, oxidized LDL and cardiovascular disease. *Autoimmun Rev.* 2002;1:233-7.
181. Rhew EY, Ramsey-Goldman R. Premature atherosclerotic disease in systemic lupus erythematosus—role of inflammatory mechanisms. *Autoimmun Rev.* 2006; 5:101–105.
182. Sherer Y, Zinger H, Shoenfeld Y. Atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity.* 2010; 43:98-102.
183. Agmon-Levin N, Blank M, Zandman-Goddard G, Orbach H, Meroni PL, Tincani A, Doria A, Cervera R, Miesbach W, Stojanovich L, Barak V, Porat-Katz BS, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D: an instrumental factor in the anti-phospholipid syndrome by inhibition of tissue factor expression. *Ann Rheum Dis.* 2011 Jan;70(1):145-50.
184. Hassan AB, Rönnelid J, Gunnarsson I, Karlsson G, Berg L, Lundberg I. Increased serum levels of immunoglobulins, C-reactive protein, type 1 and type 2 cytokines in patients with mixed connective tissue disease. *J Autoimmun.* 1998; 11:503-8.
185. Bodolay E, Aleksza M, Antal-Szalmás P, Végh J, Szodoray P, Soltész P, Szegedi A, Szekanecz Z. Serum cytokine levels, type 1 and intracellular T cell cytokine profiles in mixed connective tissue disease. *J Rheumatol.* 2002;29: 2136-42.
186. Funauchi M, Sugishima H, Minoda M, Horiuchi A. Serum level of interferon-gamma in autoimmune diseases. *Tohoku J Exp Med.* 1991;164:259-67.
187. Funauchi M, Minoda M, Horiuchi A. Relationship between serum interleukin-4 or interferon-gamma level and B cell abnormality in patients with collagen vascular diseases. *Ryumachi* 1991; 31:493-501.
188. Romagnani S. Human Th17 cells. *Arth. Res. Ther.* 2008; 10:206-218.
189. Bettelli E, Korn T, Oukka M, Kuchroo VK. Induction and effector functions of T(H)17 cells. *Nature* 2008;453:1051-1057.

190. Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, se Sauvage FJ, Gurney AL. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by a production of interleukin-17. *J. Biol. Chem.* 2003; 278:1910-1914.
191. Murphy CA, Langrish CL, Chen Y, Blumenschein W, McClanahan T, Kastelein RA, Sedgwick JD, Cua J. Divergent pro-and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation, *J. Exp. Med.* 2003;198:1951-1957.
192. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick J, McClanahan T, Kastelein RA, Cua D. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med.* 2005; 201:233-240.
193. Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin. Exp. Immunol.* 2007;148:32-46.
194. Kurasawa K, Hirose K, Sano H, Endo H, Shinkai H, Nawata Y, Takabayashi K, Iwamoto I. Increased interleukin-17 production in patients with systemic sclerosis, *Arthritis Rheum.* 2000;43: 2455-2463.
195. Chen DY, Chen YM, Lan JL, Lin CC, Chen HH, Hsieh CW. Potential role of Th17 cells in the pathogenesis of adult-onset Still's disease. *Rheumatology (Oxford).* 2010; 49: 2305-12.
196. Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Wong PT, Lam CW. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: Implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clin. Immunol.* 2008;127: 385-393.
197. Nalbandian A, Crispin JC, Tsokos GC. Interleukin-17 and systemic lupus erythematosus: current concepts. *Clin. Exp. Immunol.* 2009; 157:209-215.
198. Auwerx J, Bouillon R, Kesteloot H. Relation between 25-hydroxyvitamin D3, apolipoprotein A-I, and high density lipoprotein cholesterol. *Arterioscler Thromb.* 1992 Jun;12(6):671-4.
199. Liu E, Meigs JB, Pittas AG, McKeown NM, Economos CD, Booth SL, Jacques PF. Plasma 25-hydroxyvitamin D is associated with markers of the insulin resistant phenotype in nondiabetic adults. *J Nutr.* 2009; 139:329-34.
200. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction

and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med.* 1999;340: 14–22.

201. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Zenari L, Scala L, Cigolini M, Arcaro G. Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and carotid artery intima-media thickness among type 2 diabetic patients. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006; 65: 593-7.
202. Pilz S, Henry RM, Snijder MB, van Dam RM, Nijpels G, Stehouwer CD, Tomaschitz A, Pieber TR, Dekker JM. 25-hydroxyvitamin D is not associated with carotid intima-media thickness in older men and women. *Calcif Tissue Int.* 2009; 84: 423-4.
203. Kendrick J, Targher G, Smits G, Chonchol M. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis.* 2009 Jul;205(1):255-60.
204. Lipsky PE. Systemic lupus erythematosus: an autoimmune disease of B cell hyperactivity, *Nat. Immunol.* 2001;2:764-766.
205. Chan OT, Madaio MP, Shlomchik MJ. The central and multiple roles of B cells in lupus pathogenesis, *Immunol. Rev.* 1999;169:107-121.
206. Salomonsson S, Jonsson MV, Skarstein K, Brokstad KA, Hjelmstrom P, Wahren-Herlenius M, Jonsson R. Cellular basis of ectopic germinal center formation and autoantibody production in the target organ of patients with Sjögren's syndrome, *Arthritis Rheum.* 2003;48:3187-3201.
207. Marston B, Palanichami A, Anolik JH. B cells in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2010;22:307-315.
208. Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K, Tedder TF. Altered B lymphocyte function induces systemic autoimmunity in systemic sclerosis, *Mol. Immunol.* 2004;41:1123-1133.
209. Arce E, Jackson DG, Gill MA, Bennett LB, Banchereau J, Pascual V. Increased Frequency of Pre-germinal Center B Cells and Plasma Cell Precursors in the Blood of Children with Systemic Lupus Erythematosus, *J. Immunol* 2001;167:2361–2369.
210. Sims GP, Ettinger R, Shirota Y, Yarboro CH, Illei GG, Lipsky PE. Identification and characterization of circulating human transitional B cells. *Blood* 2005;105:4390-4398.
211. Dörner T, Jacobi AM, Lee J, Lipsky PE. Abnormalities of B cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol Methods.* 2011 Jan 5;363(2):187-97.

212. Odendahl M, Jacobi A, Hansen A, Feist E, Hiepe F, Burmes GR, Lipsky PE, Radbruch A, Dörner T. Disturbed peripheral B lymphocyte homeostasis in systemic lupus erythematosus, *J. Immunol.* 2000;165:5970-5979.
213. Jacobi AM, Obendahl M, Reiter K, Bruns A, Burmester GR, Radbruch A, Valet G, Lipsky PE, Dörner T. Correlation between circulating CD27^{high} plasma cells and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus,. *Arthritis Rheum.* 2003;48:1332-1342.

Iktatószám: DEENKÉTK/330/2013.

Tételszám:

Tárgy: Ph.D. publikációs lista

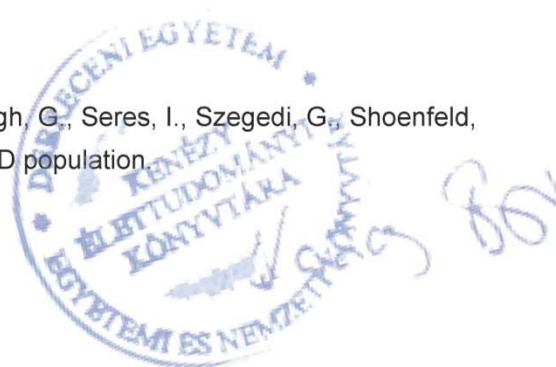
Jelölt: Hajas Ágota Helga

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., Csípő, 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 tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2013.10.16



