

## 1. Bevezetés

A szisztémás autoimmun kórképek [kötőszöveti betegségek] ismeretlen eredetű, több szervet érintő, általában markáns immunológiai eltérésekkel járó, kórképenként [s egyes kórképeken belül betegenként egyaránt] nagy változatosságot mutató betegségek. A kötőszöveti betegségek általános jellemzője, hogy a légzőrendszer gyakran érintetté válik a kórlefordulás során. Az alveoláris térben észlelhető kontinuuusan zajló gyulladás [alveolitisz] tüdőfibrózishoz vezet. A légzőrendszer érintettségének patomechanizmusa, súlyossága és prognózisa azonban jelentősen eltér az egyes kórképekben.

A perifériás vérben észlelhető eltérések általában nem jelzik egyértelműen a belszervi folyamatok jellegzetességeit. A belső szervek parenchimájában zajló gyulladásos folyamatok tanulmányozása – az invazív mintavételi lehetőségek miatt – nehéz. Ez alól talán egyedül a tüdő kivétel: bronchoscopos vizsgálat során az alveoláris tér átmosható [bronchoalveoláris lavage, BAL], onnan folyadék nyerhető, melynek sejtes összetétele tükrözi az ott zajló lokális, aktív gyulladásos folyamatokat.

Szisztémás autoimmun kórképek [systemás sclerosis /SSc/, systemás lupus erythematosus /SLE/, polymyositis/dermatomyositis /PM/DM/, nem differenciált kollagenózis /NDC/] esetén aktív alveolitiszt akkor állapítunk meg, ha az alveoláris térben steril gyulladás mutatható ki: az összsejtszám megnövekedése mellett valamely sejtcsoport aránya is megváltozik. Amennyiben a limfociták aránya nő meg, akkor limfocitás alveolitiszt, ha pedig a granulociták aránya nő meg, granulocitás alveolitiszt állapítunk meg. Az

összsejtszám növekedéséhez általában a monocitoid elemek számának emelkedése is jelentősen hozzájárul. A sejtek aktivált állapotban vannak, gyulladásos mediátoraik révén a környező szövetek károsodását, majd a tüdőparenchima fibrotikus átépülését okozzák. Az immunválasz centrális szakaszában, az antigén prezentáló sejtek (mint például az alveoláris makrofágok) és a T-sejtek (CD3+ limfocita) kommunikációjának következtében úgy változik az általuk termelt citokinek egyensúlya, hogy az az immunválasz módját (tolerancia/effektor válasz) és az effektor mechanizmusok típusát (sejtes/humorális) alapvetően befolyásolja. Az egyensúlyt a T-helper sejtek (CD4+ T-sejt) jellegzetes citokin-termelése révén megállapítható szubpopulációkkal szokás meghatározni (Th0/Th1/Th2/Th3). A szisztémás autoimmun betegségekben zajló fibrizáló alveolitiszt jellemző citokin-mintázatról nagyon kevés adat áll rendelkezésre. A folyamatot elindító/befolyásoló tényezők számos részlete nem ismert, feltételezhetően mind genetikai, mind környezeti faktorok szerepet játszanak az alveolitisz kialakulásában. Ez a két tényező együttesen az immunrendszer működését befolyásoló anyagok [citokinek, kemokinek] felszabadulását, az immunválasz módját [celluláris/humorális válasz] meghatározó Th1/Th2 rendszer megváltozott egyensúlyát, oxidatív gyökök felszaporodását, megnövekedett kollagénszintézist és az extracelluláris mátrixproteinek depozícióját eredményezi. Mindez végül súlyos szervi károsodáshoz [például tüdőfibrózishoz] és az érintett szervek elégtelen működéséhez vezet.

A gyulladás lefolyása, kezelhetősége függ a gyulladásban résztvevő sejtek típusától. A BAL vizsgálattal kimutatható limfocitás alveolitiszt általában lassabb progressziójú, kezelésre jobban reagáló elváltozásnak tekintik a rosszabb prognózisú granulocitás típusal szemben. Amíg az aktív gyulladás gyógyszeresen gátolható, addig a kialakult fibrózis már végleges, visszafordíthatatlan állapot. Az alveolitisz következményeként fellépő fibrózis adott esetben súlyos lehet, összességében a beteg halálához vezethet. Ezek alapján fontos cél, hogy a különböző betegségek pulmonális érintettségét a lehető leghamarabb diagnosztizáljuk, s az eltérő gyulladásos folyamatok patomechanizmusát, patogenetikai és prognosztikai jellemzőit meghatározzuk a sikeresebb kezelés érdekében.

A szisztémás szklerózis a bőr és a belső szervek fibrózisával és degeneratív elváltozásaival jellemezhető autoimmun megbetegedés. A belső szervi tüneteket tekintve a kórkép pulmonális tünetei a leggyakoribbak. Napjainkban a pulmonális fibrózis vezető haláloknak tekinthető szisztémás szklerózis esetén. A SSc két altípusa közül a mérsékelt bőrelváltozásokkal járó csoportban (lcSSc) a belső szervek érintettsége később jelentkezik, lefolyása enyhébb. A pulmonális fibrózisnak is kisebb a jelentősége, bár sok az átmeneti alak. A diffúz bőrelváltozással járó sclerodermás betegcsoportban (dcSSc) viszont gyakori az alveolitisz, mely dominálón a rosszabb prognózisú neutrofil granulocitás típusba tartozik. Gyakran észlelhető azonban a limfociták felszaporodása is. Jellemző a CD8+ T-sejtek túlsúlya. A betegek 30%-ának szérumában anti-Scl-70 antinukleáris antitest észlelhető. A tüdőben

kontinuusan zajló intersticiális gyulladás évek, évtizedek alatt lépesméztüdő kialakulásához vezet.

Nem differenciált kollagenózisról (NDC) akkor beszélünk, ha a szisztémás autoimmun megbetegedés fennállása már biztos, de a rendelkezésre álló laboratóriumi és klinikai tünetek alapján nem sorolható be egyik definitív szisztémás autoimmun kórképbe sem. Az NDC-os esetek egy része a nyomonkövetés során átmegy egy definitív kórképbe, egy másik részük tartósan megmarad ebben a fázisban, míg egy kisebb hányaduk akár regrediálhat is. Vezető tünete a Raynaud szindróma, a nem-erozív polyarthritisz és a keratoconjunctivitis sicca. A tüdő érintettségéről keveset tudunk, a háttérben zajló alveolitisz főbb jellemzői sem voltak ismertek munkánk előtt. A pulmonális tünetek jelentősége sem volt eddig ismert.

A Wegener granulomatózis (WG) a szisztémás vaszkulitiszek közé sorolható autoimmun kórkép, mely a kis és közepméretű artériákat érintő, immundepozitum nélküli nekrotizáló vaszkulitisszel, a légző traktus granulomatózisos elváltozásával, nekrotizáló glomerulonefritisszel, illetve az anti-neutrofil citoplazmatikus antitest (ANCA) jelenlétével jellemezhető. A felső és az alsó légutakban megfigyelhető granulomatózis mellett a betegek 25-70 százalékában pulmonális fibrózis is kialakulhat, mely azonban csak a betegek mintegy 5-10 százalékában tekinthető vezető pulmonális tünetnek. A folyamatok háttérében, a granulóma-képződéssel jellemezhető aktív szakaszban egy súlyos neutrofil (és eosinofil) granulocitász alveolitisz áll. Ha az intersticiális

gyulladás áll előtérben, akkor egy limfocitás alveolitisz észlelhető, melyre a CD4+ T-sejtek felszaporodása jellemző.

A gyulladáshoz myopathiák (polymyositis (PM), dermatomyositis (DM)) a proximális végtagizomzat szimmetrikus gyengeségével, izomlázszerű fájdalmával járó kórképek. A jellegzetes izomelváltozásokon túlmenően általános tünetek, az ízületek és más szervek érintettsége is megfigyelhető. Intersticiális tüdőbetegség a betegek 5-35%-ában észlelhető. Az intersticiális tüdőbetegségben szenvedő betegek több mint 50%-ában, RNS szintetázzal - jórészt a hisztidil-tRNS szintetázzal - szemben kialakuló autoantitest (anti-Jo-1) mutatható ki, mely súlyos pulmonális fibrózis kialakulását valószínűsíti. Enyhe gyulladáshoz izomtünetekhez is társulhat a tüdő elváltozása. Néha a myositis klinikai tünetei még nem is észlelhetők, csak a tüdőben zajló gyulladáshoz folyamat jelei. Intersticiális tüdőbetegség jelenléte kedvezőtlenül befolyásolja a kórkép prognózisát.

## **2. Célkitűzések**

### **2.1. Szerves oldószer expozíció vizsgálata kötőszöveti betegségekben**

Célul tűztük ki az inhalációs úton szervezetbe jutó szerves oldószerek, mint környezeti provokációs tényezők vizsgálatát: lehet-e jelentősége a nagyrészt inhalációs úton, a tüdőn keresztül felszívódó anyagok expozíciójának az egyes szisztémás autoimmun kórképek kialakulásában?

## **2.2. Pulmonális érintettség és egyéb klinikai tünetek vizsgálata nem differenciált kollagenózisban**

Jellemezni kívántuk a klinikánkon gondozott NDC-os betegek klinikai tüneteit, laboratóriumi jellemzőit az általunk felállított kritériumrendszer alapján. Vizsgálni kívántuk, hogy a NDC-os esetek pulmonális érintettségének klinikai tünetei milyen gyakorisággal fordulnak elő a hazai betegek körében.

## **2.3. Az alveolitisz jellemzése szisztémás autoimmun kórképekben**

Meg kívántuk állapítani az alveolitisz gyakoriságát és típusát NDC-ban, SSc-ban, DM/PM-ben, illetve más kötőszöveti betegségekben.

**2.3.1.** Vizsgálni kívántuk az egyes sejttípusok arányát egészséges és szisztémás autoimmun betegségekben szenvedő személyek BAL folyadékában.

**2.3.2.** A limfociták alveolitiszben betöltött szerepét tanulmányozva meg kívántuk határozni az egyes alcsoportok arányát [T-sejt, T-helper sejt, T-citotoxikus sejt] SSc-ban, NDC-ban, illetve más kötőszöveti betegségekben.

**2.3.3.** Vizsgálni kívántuk azt is, hogy aktív alveolitiszes tünetek esetén van-e monocita beáramlás az alveoláris térbe. Szerettük volna meghatározni azt is, hogy az alveoláris makrofágok proliferációs aktivitása kimutatható-e NDC-ban, SSc-ban, és hogy ez tekinthető-e az aktív alveolitisz új markerének?

**2.3.4.** További kérdésünk volt, hogy milyen az alveoláris makrofágok fagocitáló képessége és a kemotaxisra adott válasza SSc-ban?

**2.3.5.** Célunk volt, hogy jellemezzük az egyes kórképek [NDC, SSc, WG] megváltozott citokin-egyensúlyát.

**2.3.5.1.** Szintén célkitűzésünk volt az alveoláris makrofágok proinflammatorikus citokintermelésének [TNF- $\alpha$ , IL-6] vizsgálata SSc-ban szenvedők BAL folyadékában ELISA módszerrel.

**2.3.5.2.** Az egyes sejttípusok citokin termelésének intracitoplazmatikus meghatározása céljából 6 paraméter [négy a sejt típusának/subtípusának, kettő a termelt citokinek] egyidejű vizsgálatára alkalmas módszert kívántunk beállítani.

**2.3.5.3.** Vizsgálni kívántuk a limfociták és a monociták szerepét az immunválasz típusának meghatározásában az általuk termelt citokinek alapján WG-ban és kötőszöveti betegségekben.

### **3. Módszerek**

**3.1.** A betegek klinikai tüneteit, laboratóriumi paramétereit rögzített, a munkacsoportunk által korábban publikált protokollok alapján számítógépes nyilvántartásban vezetjük. Ezen adatokat a szerves oldószerek expozíciós gyakoriságának meghatározására a betegek otthonába eljuttatott kérdőívekre adott válaszokkal bővítettük ki, illetve a lakóhely szerint egyeztetett kontroll személyek adatait is összegyűjtöttük. Fisher-féle próbát használtuk a csoportok összehasonlítására. Yate-féle korrekciót is alkalmaztunk a szükséges esetekben.

**3.2.** NDC-os betegek klinikai / laboratóriumi vizsgálatának első lépéseként Calvo-Alén és munkatársai, illetve Alarcón és munkatársai korábbi munkáján alapuló, módosított kritériumrendszer segítségével válogattuk ki a definitív

kórképek diagnózisát ki nem elégítő, a tanulmányban résztvevő betegeket. A módosítás lényege a kapillármikroszkópos vizsgálatok és az anti-foszfolipid problémakör bevétele volt. Az elemzéseket a fent leírt számítógépes nyilvántartás adatai között végeztük.

**3.3.1.** Az alveolitisz típusának és a monocita influx nagyságának meghatározása céljából bronchoalveoláris lavage vizsgálatokat végeztünk. Olyan betegek esetén határoztuk meg a tüdőmosó-folyadék sejt-összetételét, akik esetén a mellkas rtg, a légzésfunkciós paramétereik és a nagyfelbontású tüdő CT (HRCT) vizsgálat alapján alveolitisz lehetősége felmerült.

**3.3.2.** A tüdőmosó-folyadék limfocita alcsoportjait áramlási citométerrel, hármass sejtfelszíni jelölést alkalmazva határoztuk meg fluoreszcensen jelölt monoklonális antitestek (anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8) segítségével.

**3.3.3.** Az alveoláris makrofágok proliferációját immuncitokémiával, streptavidin-biotin-peroxidáz módszert használva a Ki-67 proliferációs sejtmag antigén jelölésével határoztuk meg.

**3.3.4.** A BAL folyadék adherens sejteinek élesztő fagocitózisát vizsgáltuk complement opszonizációval, vagy anélkül, kristályibolya festés mellett. Emellett megvizsgáltuk az adherens sejtek immunglobulinnal fedett birka vörösvértest fagocitózisát is. A kemotaxis vizsgálat során zymozán aktivált komplement faktort és 5 µm-es Millipore filtert használtunk. A vándorló sejtek elmozdulását Boyden-kamrában mértük.



**3.3.5.1.** Az alveoláris makrofágok proinflammatorikus citokinjeinek spontán, illetve aktivációt (PMA) követő termelését ELISA technikával, anti-TNF- $\alpha$  és anti-IL-6 monoklonális antitestek felhasználásával mértük.

**3.3.5.2-3.** Az intracitoplazmatikus citokintermelés kimutatására 6 paraméteres áramlási citometriát alkalmaztunk. A fizikai paraméterek (sejtnagyság, granularitás) révén határoztuk meg az egyes sejttípusokat (limfocita, granulocita, alveoláris makrofág), illetve kettős sejtfelszíni jelölést végeztünk az egyes szubpopulációk meghatározására (CD3, CD4), majd további két, direkt jelölt monoklonális antitestet használtunk a termelt citokinek (IL-4, INF- $\gamma$ ) intracitoplazmatikus detektálására. Hasonló módszert használtam alveoláris makrofágok citokintermelésének (IL-10, IL-12, TNF- $\alpha$ ) meghatározására is.

## **4. Eredmények**

**4.1.** A szerves oldószerek, mint inhalációs úton szervezetbe kerülő provokatív tényezők szerepét SSc-ban szenvedő nők esetén a világon elsőként sikerült egyértelműen bizonyítani. A vizsgálatok során a SSc-os betegek 25%-ában, míg az NDC-os és a RS-ás esetek 21% százalékában tudtunk egyértelmű expozíciót kimutatni. Ez az arány SSc esetén szignifikánsan magasabb volt, mint a kontroll populációban (12%). NDC és RS esetén csak egy hasonló tendencia volt megfigyelhető. A többi vizsgált betegcsoportban nem volt kimutatható expozíciós különbség a kontrollokhöz képest. A SLE-s betegek 13, míg a RA-es és a DM/PM-es betegek 7, illetve 6 százalékában volt egyértelmű szerves

oldószer expozíció kimutatható. A primer Sjögren szindrómás csoportban nem fordult elő szerves oldószer expozíció.

**4.2.** A nem differenciált kollagenózis klinikai / laboratóriumi jellemzőinek első hazai átfogó elemzésekor – egy új, átfogó kritériumrendszer kidolgozását követően - a tüdő-érintettség magas előfordulását sikerült kimutatnunk. Mellkas röntgen-felvételen a betegek 51 százaléka kapcsán írtunk le tüdőfibrózisra utaló képet. A betegek többségénél enyhe, főként bazális elhelyezkedésű fibrózist diagnosztizáltunk, és mindössze az esetek 4 százalékában mutatott a röntgenkép közepes, vagy súlyos fokú reticulonodularis eltérést. A három vezető klinikai tünet aránya a mi betegcsoportunkban a következőképp alakult: Raynaud szindrómát a betegek 83, polyarthritist 61, illetve csökkent könnytermelést 36 százaléka esetén észleltünk. A laboratóriumi paraméterek közül a legmagasabb arányú eltérés az antinukleáris antitest pozitivitás volt, melyet 51 százalékban mutattunk ki. Tartósan emelkedett anti-cardiolipin szintet 23, anti-Scl-70 antitestet 9 százalékban észleltünk. A többi vizsgált antitest elhanyagolható arányban fordult elő, míg az anti-Jo-1 esetén nem találtunk pozitív mintát. Kapillármikroszkópiával a betegek 20 százaléka esetén lehetett sclerodermára, 13 százalék esetén pedig SLE-re jellemző kapilláris mintázatot kimutatni. Ezen utóbbi eredményünkre alapozva egy prospektív tanulmány elvégzését tervezzük.

**4.3.1.** Az alveolitisz típusának meghatározása kapcsán a világon elsőként írtuk le, hogy NDC-ban a limfociták felszaporodása a jellemző. A vizsgált NDC-os

betegek 46 százalékában volt limfocitás alveolitisz igazolható, míg 21 százalékában granulocitás típusú alveolitiszt találtunk. SSc esetén túlnyomó többségben granulocitás gyulladást észleltünk. A vizsgált sclerodermás betegcsoport 54 százaléka esetén észleltünk emelkedett granulocitaszámot, míg limfocitás alveolitiszt 27% észleltük. Tüdőérintettséget mutató myositises betegcsoportot vizsgálva –az izomgyulladást megfelelően csökkentő kortikoszteroid kezelés mellett is – 52 százalékban aktív alveolitiszt igazoltunk, szintén granulocitás túlsúllyal.

**4.3.2.** A limfocita szubpopulációk meghatározása során a citotoxikus T-sejtek felszaporodását mutattuk ki a megnövekedett limfocitaszám háttérében SSc esetén. A T-limfociták (CD3+) összsejtszáma szignifikánsan emelkedett volt a sclerodermás betegek esetén a kontroll csoportéhoz képest ( $p < 0,05$ ). Az emelkedett T-sejtszám háttérében hazánkban elsőként igazoltuk a citotoxikus T-sejtek felszaporodását: A CD3+/CD8+/CD4- limfociták száma a SSc-os csoportban szignifikánsan megnövekedett volt a kontrolléhoz képest ( $p < 0,05$ ), míg a CD3+/CD8-/CD4+ limfociták száma nem mutatott jelentős különbséget a két csoport között. A NDC-os betegcsoportban hasonló tendenciákat észleltünk szignifikáns eltérések nélkül mind a T-sejtek számát, mind az alcsoportok (CD3+/CD8+/CD4-, CD3+/CD8-/CD4+ limfocita) megoszlását illetően.

**4.3.3.** A megemelkedett összsejtszám háttérét vizsgálva mind NDC, mind SSc esetén szignifikánsan ( $p < 0,01$ , illetve  $p < 0,05$ ) magasabb alveoláris makrofágszámot észleltünk a kontrolloknál tapasztaltakhoz képest. Az alveoláris makrofágok proliferációs vizsgálata során a világon elsőként

emelkedett osztódási indexet igazoltunk SSc esetén. A jellemzően limfocitás alveolitiszt mutató NDC esetén a proliferációs index a kontrollokéhoz volt hasonló. Pozitív korrelációt találtunk a granulocita arány, illetve a Ki-67+ makrofágok aránya között ( $r=0,05775$ ,  $p<0,001$ ). A SSc-os csoporton belül összevetve a granulocitás alveolitiszes eseteket azokkal, melyek normális granulocita arányt mutattak a BAL folyadékban a kontrollokéhoz képest, a Ki-67 pozitív alveoláris makrofágok szignifikánsan magasabb arányát észleltük ( $p<0,05$ ). Azon betegek esetén, akiknek a HRCT felvételen észlelt tejüveghomály kiterjedése meghaladta a bazális régiókat, szignifikánsan [ $p<0,05$ ] magasabb arányban volt proliferáló alveoláris makrofág kimutatható [12 beteg,  $9,9\pm 6,6\%$ ], mint azon betegeknél, akiknél a tejüveghomály csak a bazális régiókat érintette, vagy az egyáltalán nem volt kimutatható [20 beteg,  $5,5\pm 5,3\%$ ]. A makrofágok Ki-67 pozitívásával kapcsolatban további korrelációt nem találtunk sem más sejtek arányával, sem a tüdőfunkciós paraméterekkel összevetve.

**4.3.4.** Az alveoláris makrofágok funkcionális vizsgálata során nem igazoltunk jelentős eltérést egyik vizsgált tulajdonságban sem. Az élesztő fagocitózis mértéke hasonló volt a kontrollokéhoz képest mind a spontán, mind az opszonizált fagocitózist illetően. A birka vvt fagocitózisa sem mutatott eltérést a vizsgált csoportok között: Az alveoláris makrofágok kemotaxis vizsgálatakor sem volt észlelhető jelentős különbség a vizsgált betegcsoportok között.

**4.3.5.1.** Elsőként sikerült igazolnunk a proinflammatorikus citokinek emelkedett termelését alveoláris makrofágok vizsgálata során SSc-ban. Mind a spontán, mind a PMA stimulált TNF- $\alpha$  termelés emelkedett volt a SSc-os

csoportot vizsgálva a kontrollokéhoz képest. Az IL-6 termelést illetően szintén emelkedett spontán szekréciót tudtunk kimutatni a SSc-os csoportban a kontrollokhoz képest. Ez a különbség stimulációt követően szignifikánssá vált ( $p < 0,05$ ).

**4.3.5.2-3.** A Wegener granulomatózissal foglalkozó tanulmányaink során azt találtuk, hogy a perifériás vérben mind a CD4+, mind a CD8+ T-limfociták IL-4 termelése szignifikánsan ( $p < 0,01$ ,  $n=5$ ) megemelkedett volt a kontrollokéhoz képest, de a többi vizsgált citokin (INF- $\gamma$ , IL-2, IL-5, IL-10) tekintetében nem volt jelentős különbség a vizsgált csoportok között. Az alkalmazott cyclophosphamid/prednizon terápia nem volt kimutatható hatással a megnövekedett IL-4 termelésre. A perifériás vér monocita populációjának citokintermelése is érdekesen alakult. Megemelkedett arányú pozitivitást észleltünk az alábbi citokinek esetén: IL-12 [ $p < 0,01$ ], TNF- $\alpha$  és IL-10 [ $p < 0,05$ ]. Az alkalmazott cyclophosphamid/prednizon terápia mindhárom citokin termelését normalizálta. Az IL-8 pozitivitása ( $n=5$ ) hasonló volt a kontrollokéhoz mind a terápiát megelőzően, mind azt követően. A Wegener granulomatózissal kapcsolatban a monocitákat illetően azt is sikerült kimutatnunk, hogy a proteináz-3 elleni anti-neutrofil citoplazmális antitest (Pr3-ANCA) által opszonizált, apoptotikus polimorfonukleáris sejtek fagocitózisa szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) nagyobb mértékben növelte meg a makrofágok TNF- $\alpha$  termelését, mint az irreleváns IgG-vel kezelt, vagy a kezeletlen apoptotikus granulociták

fagocitózisa. Ez is alátámasztja mind az ANCA, mind a nem-specifikus sejtvonal fontosságát a Wegener granulomatózis patomechanizmusában.

## 5. Megbeszélés

Hazánkban elsőként igazoltuk, hogy a szervezetünkbe főként a tüdőn keresztül, inhalációs úton bejutó szerves oldószereknek, mint környezeti provokációs tényezőknek fontos szerepük van a szisztémás szklerózis kialakulásában nők esetén. A korábbi külföldi tanulmányok is csak férfi betegek, illetve és anti-Scl-70 autoantitest pozitív betegek esetén mutatták ki a szerves oldószer expozíció szerepét a SSc kialakulásában. A vizsgálataink során a többi szisztémás autoimmun kórkép és ezek előfázisának tekinthető NDC esetén sem, illetve Raynaud szindróma fennállásakor sem sikerült hasonló összefüggést kimutatni a szerves oldószer expozíció és a betegség kialakulása között. Ez az eredmény újabb igazolás az egyes kórképek eltérő patomechanizmusára, mely egyben az NDC önálló betegségként való felfogását erősíti.

A NDC-ről készült nemzetközi klinikai tanulmányok nem összehasonlíthatóak a változatos kritériumrendszerek miatt. A korábbi kritériumok saját tapasztalaton alapuló pontosításával és kibővítésével sikerült egy új kritériumrendszert kidolgozni, publikálni. Az eddigi vizsgálatok alapján a tüdőérintettség jelentősége sem volt megítélhető. Tanulmányunkban a betegek több mint felében igazoltunk pulmonális érintettséget, mely túlnyomó

többségében enyhe elváltozásnak bizonyult. Ennek részben az is oka lehet, hogy a rövid idejű betegséggel szemben a betegek vizsgálatára.

Azon betegek esetén, akiknél BAL vizsgálatra is sor került, nagyon magas arányban mutattunk ki aktív alveolitist. A világon elsőként igazoltuk a NDC-ban zajló alveolitisz limfocitás típusát, illetve a limfociták szubpopulációinak (CD3, CD4, CD8 pozitív sejtek) normál arányát. Kollagenózisokban szerzett tapasztalatok szerint ez lassabb progressziójú, kezelésre jobban reagáló elváltozásnak tekinthető a granulocitás típussal szemben, de a prognózis biztos megítéléséhez további prospektív tanulmányok szükségesek.

Az alveolitist a sejtarányok megváltozása mellett a sejtek összárszámának nagyfokú megnövekedése is jellemzi, mely részben a mononukleáris sejtek felszaporodásának is köszönhető. A világon elsőként írtuk le, hogy az alveoláris tér monocitoid sejtjeinek felszaporodásában nemcsak a megnövekedett sejtbeáramlásnak, hanem az aktív gyulladás helyén történő lokális makrofág-osztódásnak, proliferációnak is szerepe van. A Ki-67 proliferációs antigén a granulocita aránnyal mutatott szoros korrelációja, illetve a gyulladás kiterjedésével mutatott összefüggése miatt a granulocitás alveolitisz új aktivitási markerének tekinthető. NDC-ban a megnövekedett makrofág-szám háttérében nem tudtunk emelkedett arányú lokális sejtosztódást kimutatni, így ez a periféria felőli sejtbeáramlásnak tulajdonítható.

Az emelkedett számú alveoláris makrofág fagocitáló képessége és kemotaktikus hatásra történő vándorlása nem mutatott eltéréseket a kontrollokéhoz képest SSc-ban. A gyulladásos folyamatokat elősegítő citokinek

(TNF- $\alpha$ , IL-6) termelésében azonban az alveoláris makrofágok SSc esetén fokozott aktivitást mutattak. Az eddigiek alapján ezen sejtpopulációnak fontos szerepe lehet a gyulladásos folyamatok beindításában, illetve fenntartásában.

A gyulladásos folyamatok megértéséhez az immunválasz típusát (sejtes / humorális) meghatározó citokinrendszer vizsgálata nélkülözhetetlen. Az egyes kórképek megváltozott citokin-egyensúlyának jellemzésére sikeresen alkalmaztuk a 6 paraméteres áramlási citometriás vizsgálatokat. Wegener granulomatózisban sikerült igazolnunk a perifériás vér monocitáinak megváltozott citokintermelését, mely eltérések megfelelő kezelés hatására normalizálhatók voltak. A limfociták esetén észlelhető citokineltérés a Th1/Th2 rendszer zavarát igazolja. A többi kórképben a citokinhálózat feltérképezéséhez további vizsgálatok szükségesek.



## 6. Publikációk

### Írásos közlemények:

#### Angol nyelvű:

1. Berki T., Kumánovics G., Kumánovics A., Falus A., Újhelyi E., Németh P.: Production and flow cytometric application of a monoclonal anti-glucocorticoid receptor antibody. J. of Immun. Methods 1998; 214:19-27.
2. Czirják L., Koncz A., Varga I., Dévényi K., Kumánovics G., Szűcs G.: Investigation of the alveolar macrophages and T lymphocytes in 15 patients with systemic sclerosis. Clin Rheumatol 1999;18(5):357-63.
3. Moosig F., Csernok E., Kumánovics G., Gross W.L.: Opsonisation of apoptotic neutrophils by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) leads to enhanced uptake by macrophages and increased release of tumour necrosis factor-alpha (TNF-a). Clin Exp Immunol 2000; 122: 499-503.
4. Komócsi A., Kumánovics G., Zibotics H., Czirják L.: Alveolitis may persist during the immunosuppressive treatment sufficiently controlling the inflammatory muscle disease in patients with myositis. Rheumatol Int 2001; 20: 113-8.
5. Kumánovics G., Zibotics H., Juhász E., Komócsi A., Czirják L.: Subclinical pulmonary involvement assessed by bronchoalveolar lavage in patients with undifferentiated connective tissue disease. Clin Exp Rheumatol 2001; 19: 551-559.
6. Czirják L., Kumánovics G.: Exposure to solvents in female patients with scleroderma. Clin Rheumatol 2002; 21(2):114-8.
7. Lamprecht P., Kumánovics G., Mueller A, Csernok E, Komócsi A, Trabandt A, Gross WL, Schnabel A.: Elevated monocytic IL-12 and TNF-alpha production in Wegener's granulomatosis is normalized by cyclophosphamide and corticosteroid therapy. Clin Exp Immunol. 2002; 128(1):181-6.
8. Kumánovics G., Magyarlaki T., Komócsi A., Szekeres Gy., Czirják L.: Simultaneous presence of neutrophil alveolitis and Ki-67 positivity of alveolar macrophages in dermato/polymyositis and systemic sclerosis. Rheumatol. Int. 2003., 23., 6-10.

#### Magyar nyelvű:

1. Czirják L., Zibotics H., Pfund Z., Gáti I., Varjú C., Komócsi A., Kumánovics G.: Klinikai manifesztációk vizsgálata gyulladássos myopathiákban. Magyar Reumatológia 2000; 41: 211-5.
2. Komócsi A., Kumánovics G., Czirják L.: A Wegener granulomatózis. Allergológia és Klinikai Immunológia 2001; 4: 1-7.
3. Komócsi A., Kumánovics G., Czirják L.: A Wegener granulomatózisról 11 beteg kapcsán. Magyar Reumatológia 2001; 42: 79-84.
4. Kumánovics G., Zibotics H., Komócsi A., Czirják L.: Pulmonális fibrózis pathomechanizmusa szisztémás autoimmun kórképekben. Allergológia és Klinikai Immunológia 2001;4 (3): 67-73.

5. Kumánovics G., Zibotics H., Komócsi A., Czirják L.: Pulmonális fibrózis, alveolitis szisztémás autoimmun kórképekben. *Allergológia és Klinikai Immunológia* 2001;4 (4): 98-106.
6. Czirják L., Kumánovics G., Zibotics H., Nagy Z.: Nem differenciált collagenosisos betegek klinikai jellemzői. (Közlésre elküldve.)

**POSZTEREK, ELŐADÁSOK:**

**Publikált absztrakt:**

1. Kumánovics G., Thompson J.G.: Simultaneous intracellular detection of INF gamma and IL-4 using four colour flow cytometry for the determination of Th1/Th2/Th0 and Tc1/Tc2/Tc0 type cells in whole blood. Eight Canadian Flow Cytometry Consensus Meeting, November 16-18, 1997, Aylmer, Quebec, Canada. *Cytometry*, 1998; 34. (abstract).
2. Czirják L., Kumánovics G., Zibotics H., Juhász E., Zoltán I., Tóvári E.: Investigation of the lung function in patients with early connective tissue disease. International Conference on Systemic Sclerosis, Montecatini Terme, Italy, 22-26 March, 1998. *Clin. Exp. Rheumatology*, 1998;16:378 (abstract).
3. Csernok E., Moosig F., Kumánovics G., Gross W.L.: Increased production of TNF-alpha and thromboxane-A2 by macrophages which have ingested ANCA-opsonized apoptotic neutrophils. International Conference of autoantibodies and autoimmunity, Oslo, Norway, June 24-28. 1999. *Scand. J. of Immunology* (abstract).
4. Kumánovics G., Müller A., Csernok E., Gross W.L.: Normalisierung der erhöhten Zahl von IL-12+ und TNF-alpha+ Monozyten im Blut unter Therapie mit Cyclophosphamid bei der Wegenerschen Granulomatose. Regionaltagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, Rostock-Warnemünde, Deutschland, 16-19. September 1999. *Z. Rheumatol.* 1999; 58:1/48. (abstract)
5. Nagy Z., Kumánovics G., Komócsi A., Tóvári E., Czirják L.: A capillarmicroscopia jelentősége a systemás autoimmun kórképek és a Raynaud syndroma diagnosztikájában. MAKIT XXVI. Kongresszusa Harkány 1998. május 13-15. *Táplálkozás Allergia Diéta* 3. évf 2.sz. 41. (abstract)
6. Müller A., Kumánovics G., Csernok E., Trabandt A., Gross W.L.: Cyclophosphamide normalizes an exaggerated ex vivo IL-12 and TNF-alpha production and inhibits in vitro translocation of NfkB p65 in Wegener's granulomatosis. Deutsche Gesellschaft für Immunologie Jahrestagung 1999, Hannover, Deutschland, 29.09.-02.10.1999. *Immunobiology* 1999; 200:673-674. (abstract)
7. Moosig F., Csernok E., Kumánovics G., Gross W.L.: Opsonisation of apoptotic neutrophils by ANCA leads to release of proinflammatory mediators after ingestion by macrophages Rheumaklinik Bad Bramstedt, University of Lübeck, Germany. Deutsche Gesellschaft für Immunologie Jahrestagung 1999, Hannover, Deutschland, 29.09.-02.10.1999. *Immunobiology* 1999; 200:672. (abstract)

8. Nagy Z., Tóvári E., Komócsi A., Kumánovics G., Czirják L.: Systemás vasculitisek jellemzői néhány esetünk kapcsán. Pécsi Orvostudományi Egyetem, II.sz. Belgyógyászati Klinika és Nefrológiai Centrum. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLVI. Vándorgyűlése, Zalaegerszeg, 1999. június 17-19. Magyar Belorvosi Archivum Supplementum 1/1999, 52: 24. (abstract)
9. Tóvári E., Schlammdinger J., Kumánovics G., Czirják L.: HEp-2 sejteken végzett antinukleáris faktor vizsgálatok systemás autoimmun betegségekben. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLVI. Vándorgyűlése, Zalaegerszeg. 1999. június 17-19. Magyar Belorvosi Archivum Supplementum 1/1999, 52: 43. (abstract)
10. Kumánovics G., Czirják L.: Szerves oldószer expositio szerepe systemás autoimmun kórképekben. MRE 2001. Évi Vándorgyűlése, Pécs, 2001. október 18-21. Magyar Reumatológia 2001, 42: 153. (abstract)

#### **További poszterek, előadások:**

1. Berki T., Kumánovics G., Czirják L., Németh P.: Detection of intracellular antigens by flow cytometry. 18th National Meeting of the Hungarian Biophysical Society 1997.
2. Grama L., Ujhelyi E., Berki T., Kumánovics G., Lustyik Gy.: Evaluation of different permeabilizing techniques for the detection of intracellular antigens and surface receptors. 18<sup>th</sup> National Meeting of the Hungarian Biophysical Society 1997.
3. Czirják L., Tóvári E., Kumánovics G., Komócsi A., Nagy Z.: Klinikai - laboratóriumi jellemzők vizsgálata nem differenciált kollagenózisban. Magyar Reumatológusok Egyesületének 1997. évi vándorgyűlése Bükkfűrdő-Szombathely. 1997.dec.4-7.
4. Kumánovics G., Komócsi A., Zibotics H., Zoltán I., Juhász E., Tóth T., Czirják L.: Systemás sclerosisos és korai, előfázisos esetek tüdőmanifesztációjának összehasonlító vizsgálata. Magyar Immunológiai Társaság 1998. évi Konferenciája, Harkány. 1998. szeptember 30 – október 2.
5. Czirják L., Kumánovics G., Komócsi A.: Klinikai immunológiai vizsgálatok nem differenciált kollagenózisban. A magyar tudomány napja, Budapest, 1999. november 2.
6. Kumánovics G., Tóvári E., Komócsi A., Czirják L.: Klinikai/laboratóriumi vizsgálatok systemás sutoimmun kórképekhez társuló alveolitis és interstitialis tüdőfibrózis esetén. POTE, II. sz. Belgyógyászati Klinika, Pécs. Fiatal Allergológusok Első Fóruma, Budapest. 1999. szeptember 30.
7. Kumánovics G., Komócsi A., Tóth T., Czirják L.: Bronchoalveoláris lavage jelentősége a polysystemás autoimmun betegségek tüdőmanifesztációjának vizsgálatában. Magyar Rheumatológiai Egyesület 1999. évi Vándorgyűlése, Debrecen; 1999. október 13-17.
8. Nagy Z., Tóvári E., Komócsi A., Kumánovics G., Czirják L.: Klinikai immunológiai vizsgálatok nem differenciált kollagenózisban. Magyar

Rheumatológiai Egyesület 1999. évi Vándorgyűlése, Debrecen. 1999. október 13-17.

9. Kumánovics G., Komócsi A. Czirják L.: Alveolitis vizsgálata nem differenciált collagenosisban és systemás sclerosisban. Magyar Immunológiai Társaság 1999. évi Kongresszusa, Bük. 1999. október 27-29.