Gyermekkori funkcionális vaszkuláris betegségek megjelenési formái és vizsgálati lehetőségei

Doktori (PhD) dolgozat

Dr. Mosdósi Bernadett

Gyógyszertudományok Doktori Iskola, Neurofarmakológia Program

Témavezető: Dr. Bölcsei Kata
egyetemi adjunktus

Dr. Helyes Zsuzsanna
egyetemi tanár

Doktori Iskola és Programvezető: Dr. Pintér Erika
egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Klinikai Központ, Gyermekgyógyászati Klinika,

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet & Szentágothai Kutatóközpont

Pécs

2018.

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE……..3
BEVEZETÉS
I.Raynaud-fenomén……...5
Klinikai jellegzetesség…….....5
Epidemiológia……7
Raynaud-fenomén klinikai osztályozása……..…7
Patofiziológia……10
Diagnózis, vizsgálati módszerek……...11
Laboratóriumi vizsgálatok……12
Kapillármikroszkópia……13
Funkcionális vizsgálatok……...……15
Terápia…….……18
II.Akrocianózis……..…..20
III.Eritromelalgia……....22

CÉLKITŰZÉS……....24
Statisztikai elemzés……25

VIZSGÁLATOK
I. vizsgálat: Raynaud-szindrómás betegek retrospektív vizsgálata a PTE Gyermekgyógyászati klinikán
Demográfiai adatok, klinikai jellegzetességek……..26
Diagnosztikus vizsgálatok……30
II. vizsgálat: Primer Raynaud-szindrómás betegek funkcionális vaszkuláris vizsgálata
A kísérlet célja…….……34
Vizsgálati protokoll……...35
Eredmények
A vizsgálatban résztvevők klinikai és laboratóriumi jellemzői……38
A mikrocirkulációs károsodás betegeinkben……41
Vazoaktív szenzoros neuropeptid szint értékei.....45

III. vizsgálat: Akrocianózisban szenvedő posztinfekciózus betegünk esetének bemutatása és funkcionális vaszkuláris vizsgálata

Anamnézis, klinikai tünetek……..47

Vizsgálati eredmények……..48

Gyógyszeres terápia……..49

Funkcionális vizsgálatok……...50

MEGBESZÉLÉS…….53

EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA, KÖVETKEZTETÉSEK……...65

IRODALOMJEGYZÉK…….66

A dolgozatban szereplő képek forrása……..87

PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

Az értekezés alapját képező eredeti közlemények……87

Egyéb eredeti közlemény……..89

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS……90

FÜGGELÉK:

A vizsgálatba beleegyező nyilatkozat

Az értekezés alapját képező eredeti közlemények

RÖVIDITÉSEK JEGYZÉKE

ACA: Anti-Centromer Antitest

ANA: AntiNukleáris Antitest

APL: Anti-PhosphoLipid

AVA: ArterioVenosus Anastomosis (AVA)

AUC: Area Under the Curve

BMI: Body Mass Index

C3, 4: Komplement 3, 4

CA: Cold agglutinin

CAS: Cold Agglutinin Szindróma

CGRP: Calcitonin Gene-Related Peptid (calcitonin gén rokon peptid)

CRP: C Reaktív Protein

CTD: Connective Tissue Disease

dsDNS: double-stranded DNS

ENA: Extractable Nuclear Antigen

Hgb: Haemoglobin

HIV: Human Immunodeficiency Virus

HR-CT: High-Resolution Computed Tomography

Htc: Hematokrit

Ig: Immunglobulin

LDH: Laktát DeHidrogenáz

LDF: Laser Doppler Flowmetry

LASCA: LAser Speckle Contrast Analysis

NDC: Nem Differenciált Collagenosis

NFC: Nailfold capillaroscopy (körömágy-kapillármikroszkópia)

NO: Nitric Oxide

PACAP: Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide

PCH: Paroxysmal Cold Hemoglobinuria

RF: Raynaud-Fenomenon

RJ: Raynaud-Jelenség

ROIs: Regions Of Interests

RS: Raynaud-Szindróma

SCL-70: topoisomerase- I ellenes antitest

SLE: Szisztémás Lupus Erythematosus

SOM: SOMatostatin

SSc: Szisztémás Szklerózis

TSH: Tireoidea Stimulaló Hormon

VIP: Vazoaktív Intesztinalis Peptid

We: Westergren vizsgálat

BEVEZETÉS

A **funkcionális vaszkuláris kórképek**hez a Raynaud-fenomén, az akrocianózis és az eritromelalgia kórképek tartoznak, melyek a jellegzetes klinikai tünetek mellett előfordulási gyakoriságukban, patogenezisükben, az alkalmazott terápia típusában is különböznek [Heidrich, 2010]. A betegségek leggyakoribb megjelenési formája a Raynaud-fenomén.

I. RAYNAUD-FENOMÉN

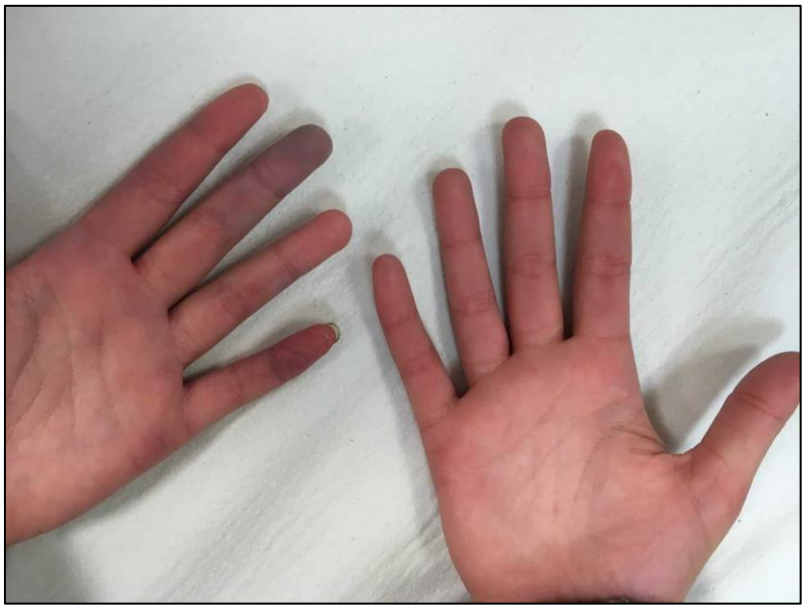
A Raynaud-fenomén (RF) epizódikusan jelentkező vaszkuláris betegség. A jelenséget először 1862-ben Maurice Raynaud, francia orvostanhallgató, a végtagok „lokális asphyxiájaként" írta le. A paroxizmális jelenség a perifériás arteriák, arteriolák tranziens vazopazmusa, melyet az érintett régió jellegzetes trifázisos elszíneződése kísérhet [Wigley, 2002; Heidrich és mtsai., 2008].

A nemzetközileg elfogadott definició szerint a kórkép diagnózisa akkor állítható fel, ha minimum két színelváltozás jelentkezik, feltételezhető Raynaud-szindrómaként (RS) az egy színelváltozás és az érzéketlenség jelentkezését definiálják.

Klinikai jellegzetességek

Az akrális területeken kezdetben az arteriák, arteriolák vazospazmusa miatt fehér elszíneződés alakul ki, melyet a kapillárisok dilatációja és a vénás sztázis okozta kék, illetve az arteriák és arteriolák dilatációja révén kialakult piros fázis követ (**1.kép**). Az RF-ra jellegzetes szimmetrikusan fellépő trifázis jelentkezése gyermekkorban nem jellemző, de fontos

hangsúlyozni, hogy a színelváltozást a betegek nem mindig tudják pontosan jellemezni, ebben segítségünkre lehet a fotodokumentáció [LeRoy, 1992].



1.kép: Raynaud-jelenség

Leggyakrabban a kéz, illetve a lábujjak érintettek, de szokatlan lokalizációban, mint a nyelven [Bridges és mtsai., 2002], az emlőbimbón [Anderson és mtsai., 2004], a nemi szerveken [Al-Awami és mtsai., 2004; Knopman, 2004] történő megjelenéséről is beszámoltak.

A jellegzetes színelváltozás mellett a betegek ujjzsibbadásról és érzéketlenségről (80%), fájdalomról (50%), illetve elhúzódó sebgyógyulásról számolnak be. Ulceráció, gangréna előfordulása elsősorban szekunder RS esetén jellemző [Wigley, 2002; Nigrovic, 2003].

A jelenség kiváltásában a hideg hőmérséklet és a stressz kiemelendő, de a betegek egy része a tünetek kialakulásának hátterében kiváltó okot megnevezni nem tud [Brown és mtsai., 2001; Heidrich és mtsai., 2008].

Epidemiológia

A Raynaud-jelenség gyakori elváltozás. Garner és mtsainak metaanalizisében a primer Raynaud-jelenség összesített prevalenciája 4,85 %-nak bizonyult. A kórkép gyermekkori előfordulása azonban nem pontosan ismert. Jones és mtsainak 720 főt átölelő, 12-15 éves gyermek populációban végzett vizsgálata során a prevalencia lányok esetében 18%, fiúk esetében 12 % volt kimutatható [Jones és mtsai., 2003].

A primer RF jellegzetesen serdülőkorban jelentkezik, de kisdedkori esetről is beszámoltak [Herrick és mtsai.,1991; Nigrovic és mtsai, 2003; Sharathkumar és mtsai., 2011]. A tünetek átlagos prezentációs ideje 12 év volt. Szekunder RS minden életkorban előfordulhat, de gyakoribb az idősebb kori kezdet.

A kórkép 3-4-szer gyakrabban fordul elő lányokban [Nigrovic és mtsai., 2003].

A kórkép poligénes öröklődésű, a betegek közel negyedében a családban Raynaud-jeneség (RJ) vagy kötőszöveti betegség fordul elő [Wigley, 2002]. Heidrich és munkatársainak 900 betegen folytatott vizsgálata során a családi halmozódás 3%-nak mutatkozott [Heidrich és mtsai., 2008].

A kórkép migrénnel történt társulása is jól ismert [Susol és mtsai., 2000].

Raynaud-szindróma klinikai osztályozása

A Raynaud-fenomén (RF) primer és szekunder csoportja különíthető el [LeRoy és mtsai., 1992].

A betegek közel 80 %-ban észlelhető **primer forma** esetén immunszerológiai, kapillármikroszkópiai illetve egyéb autoimmun betegségre utaló eltérés nem észlelhető [Priolett és mtsai., 1987; Kallenberg, 1990; Hirschl és mtsai., 2006; Heidrich és mtsai., 2008; Maverakis és mtsai.,2014] (**1.táblázat**). A kórkép idiopatiás eredetű, szisztémás jelenség, melyet az RF tünetekhez gyakran társuló migrén, retinopátia, angina jelenléte is alátámaszt [Garner és mtsai., 2015].

1. A Raynaud-fenomén tüneteinek igazolása a három lépéses kérdőív alapján
2. Normál kapillármikroszkópia
3. Fizikális vizsgálat során szekunder okokra utaló eltérés, mint ulceráció, szöveti nekrózis, gangréna, szklerodactylia, kalcinózis, bőr fibrózis hiánya
4. Kötőszövet betegségre utaló kórtörténet hiánya
5. Negatív vagy enyhén emelkedett (1:40) antinukleáris antitest teszt

1. táblázat: Primer Raynaud-jelenség diagnosztikus kritériuma
(Maverakis és mtsai.,2014)

A **szekunder forma** egy másik megbetegedés részjelensége, leggyakrabban kötőszöveti betegségek bevezető tünete lehet, de pajzsmirigy megbetegedéshez, hiperviszkozitáshoz, gyógyszerhatáshoz társultan is észlelhetjük jelentkezését (**2.táblázat**).

A kötőszöveti betegségek közül leggyakrabban szisztémás szklerozisban (SSc) (84%) szenvedőkben jelentkezik, de kevert kötőszöveti betegség (50%), illetve szisztémás lupus erythematosus (10%) esetén is jellegzetes klinikai tünet [Schlattmann és mtsai., 2008; Czirják és mtsai., 2011; Valentini és mtsai., 2011; Hughes és mtsai., 2016; Bundhun és mtsai., 2017].

A kórkép felismerése és a gyermekek gondozásba vétele alapvető jelentőségű. Bár a primer RF jó prognózisú betegség, azonban a betegek 5-20%-ban idővel kötőszöveti megbetegedés alakulhat ki [Gerbracht és mtsai., 1985; Fitzgerald és mtsai., 1988; Spencer- Green, 1998.; Hirschl és mtsai., 2006; Martini és mtsai., 2006; Bellando-Randone és mtsai.; 2013; Hughes és mtsai., 2016].

Immunológiai betegségek: • Szisztémás szklerózis • Szisztémás lupus erythematosus (SLE) • Dermatomyositis, polymyositis • Kevert kötőszöveti betegség (MCTD) • Szisztémás vaszkulitis • Antifoszfolipid szindróma • Sjögren szindróma
Endokrin kórképek: • Hipotireózis • Pheochromocytoma • Karcinoid szindróma
Hematológiai kórképek: • Krioglobulinémia, hideg agglutininek • Paraproteinemia • Policitémia
Artériák betegsége: • Artériás embolizáció, trombózis, mikroembolizáció • Szisztémás vaszkulitis
Kémiai anyagok, gyógyszerek: • Gyógyszerek: ß-blokkoló, citosztatikumok (vinblastin, cisplatin, bleomycin), clonidine, interferon • Kémiai anyagok: polivinil-klorid
Külső kompresszió okozta eltérés: • Thoracic outlet szindróma (TOS) • Carpal tunnel szindróma
Kardiális ok: • Súlyos kardialis dekompenzáció
Malignus betegségek: • Szolid tumor: tüdő-, prosztata-, petefészek daganat • Lymphoma

2. táblázat: A szekunder Raynaud-szindróma okai

(Czirják és mtsai, 2003; Heidrich, 2010; Herrick, 2017 nyomán)

Patofiziológia

A RS patofiziológiája nem teljesen ismert, a vazokonstriktor és vazodilatatív folyamatok egyensúlyi zavara észlelhető. Felnőtt betegeknél végzett vizsgálatok a jelenség kialakulásában a centrális és perifériás neurogén faktorok, az endothel sejtkárosodás, illetve a kóros immunválasz szerepét feltételezik [Herrick, 2014; 2017].

A neurogén faktorok közül mind primer, mind szekunder RJ esetén is a szenzoros afferens rostokból felszabaduló vazodilatatív hatású calcitonin-gene-related peptid (CGRP), illetve a vazoaktív intesztinális peptid (VIP) szint csökkenését észlelték és a perifériás érfalban megnövekedett alfa-adrenerg receptor aktivitást, denzitást mutattak ki [Freedman és mtsai.,1999; Herrick, 2005, 2016; Prete és mtsai., 2014; Flavahan, 2015].

A betegekben fokozott endotél-függő vazokonstrikciós molekulák (endotelin-1, angiotenzin II), csökkent vazodilatatív molekula szint (NO, prosztaciklin) mutatható ki [Freedman és mtsai., 1999; Herrick és mtsai., 2001].

Az endotélsejt károsodás és funkciózavar a betegség korai szakaszában jelentkezik, mely csökkent trombocita adhezióval, csökkent von Willebrand faktor szinttel, csökkent adenozin felvétellel társul [Freedman és mtsai., 1999].

A kórkép kialakulásában intravaszkuláris okok is részt vesznek, mint a trombocita aktiváció, fibrinolízis defektusa, illetve a fokozott vér viszkozitás. A többszörösen ismétlődő iszkémia-reperfúzió során fokozott fehérvérsejt aktiváció, oxigén reaktív gyökképződés észlelhető [Vona és mtsai., 2018].

Primer Raynaud-jelenség esetében a funkcionális károsodás dominál, míg szekunder esetben szerkezeti eltérés is észlelhető. A strukturális átalakulásban az endotélsejtek apoptózisa, adhéziós molekulák upregulációja, intimális proliferáció, kapilláris atrofia, perivaszkuláris fibrózis és a sérült vaszkuláris remodelling és arteriogenezis, az

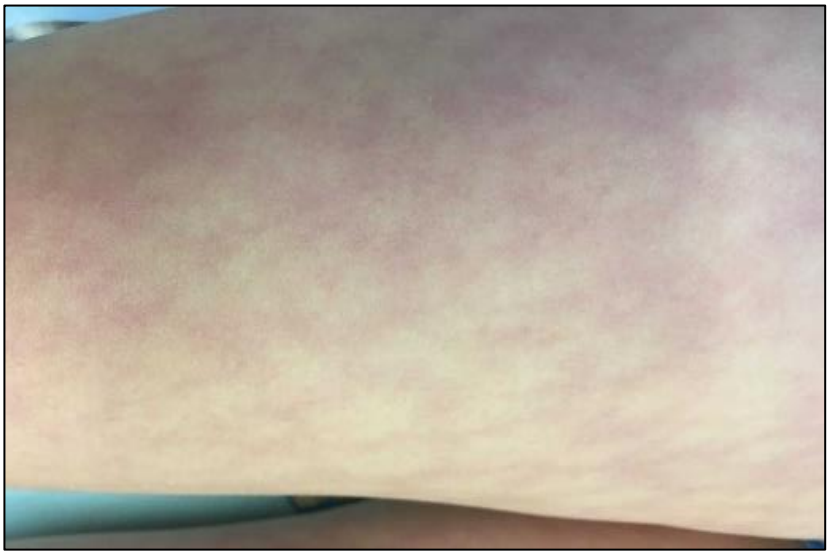
alapbetegség hatására fokozott citokin elválasztás, elsősorban tumor growth factor-beta (TGF-beta) szerepe emelendő ki [Fett, 2013; Denton, 2015; Herrick, 2016].

Diagnózis, vizsgálati módszerek

A **diagnózis** felállítása a részletes egyéni és családi kórtörténeten, a klinikai tüneteken, laboratóriumi és kapillarmikroszkópiás vizsgálaton alapul.

A családi **anamnézis** során a családban előforduló kötőszöveti betegségek mellett a szervspecifikus autoimmun betegségeket, a migrént, a kardiovaszkuláris betegséget is fel kell deríteni. Az anamnézis felvételekor a bőr elszíneződése mellett a lokalizáció, a jelenség gyakorisága, az időtartama, a triggelelő faktorok szerepének felderítése és a társuló tünetek, mint az ujjzsibbadás, érzéketlenség, elhúzódó sebgyógyulás felismerése is alapvető fontosságúak. A kórkép kiváltásában résztvevő toxinok, drogok használatára, illetve vibrációs ártalmakra is rá kell kérdezni. Az anamnézis felvétele során egyéb szisztémás autoimmun betegségekre utaló jeleket kell hangsúlyozni, mint bőrkiütés, fotoszenzitivitás, szem-, szájszárazság, ízületi panaszok, nyelési zavar, mellkasi panasz.

A **fizikális vizsgálat** során a jellegzetes bőrszínelváltozás mellett az érintett területeken észlelt elhúzódó sebgyógyulás, ulcerációk, illetve kötőszöveti betegségekre utaló fizikális tünetek emelendőek ki. Szklerodactilia esetén a kéz ujjain a bőr nehezen elemelhetővé válik, mely szisztémás szklerózis vagy kevert kötőszöveti betegség (MCTD) bevezető tünete lehet. Szisztémás szklerodermára jellegzetes bőrérintettség a hipo- ill. hiperpigmentáció, a szubkután kalcinózis, teleangiektáziák jelenléte is. A Raynaud tünet mellett észlelt pillangószárny eritéma, diszkoid lupus, alopécia, a fájdalmatlan orális ulceráció szisztémás lupus erythematosus (SLE) esetében észlelhető. A hőmérsékleti hatástól függetlenül fennálló, un. fix livedo retikularis elsősorban antifoszfolipid szindróma, vaszkulitisz ill. SLE esetén észlelhető (**2.kép**).



2.kép: Livedo retikularis

A szisztémás autoimmun kórképek gyakran Raynaud-jelenséggel kezdődnek, a többi klinikai tünet csak évekkel későbbi alakul ki [Hirschl és mtsai., 2006; Mayes, 2008; Czirják és mtsai., 2011]. A fentiekre tekintettel RJ észlelése esetén antinukleáris antitest (ANA) vizsgálat és kapillármikroszkópia elvégzése szükséges [Pain és mtsai., 2016].

A **laboratóriumi vizsgálati** módszerek közül a gyulladásos paraméterek, vérkép analízis során anaemia, limfopénia kizárása fontos. A társuló kórképek kizárása miatt vese-, máj-, pajzsmirigy funkció, szérum elektoforézis, komplement szint (C3,C4) illetve szérum immunglobulin izotípus meghatározás szükséges. A rutin része kell legyen a vizelet vizsgálat is, mert a szisztémás autoimmun betegséghez társuló vesebetegségek nem okoznak szubjektív panaszokat. A reggeli, első, középsugaras vizeletben proteinuria, hematuria, cilindruria jeleit kell keresni.

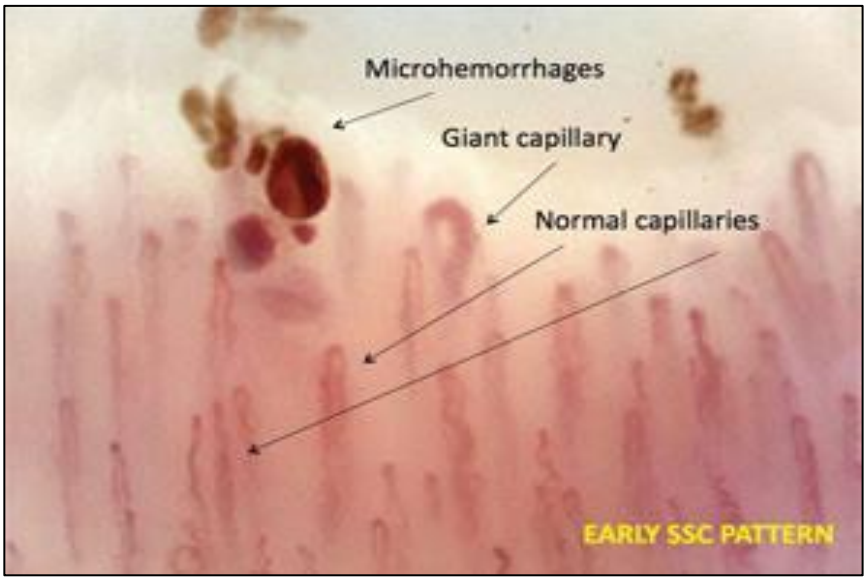
Az immunszerológiai módszerek közül szűrővizsgálatként ANA meghatározás javasolt. Míg a szekunder RF betegek 85-100%-ban ANA pozitivitás észlelhető, addig a primer RJ diagnózisa csak akkor állítható fel, ha ANA negatív vagy 1:160 titer el nem érő pozitivitás észlelhető [Nigrovic és mtsai., 2003; Koenig és mtsai., 2008; Linnemann és mtsai., 2016; Pain és mtsai., 2016]. Amennyiben ANA pozitivitás emelkedett gyulladásos aktivitással,

hipokomplementémiával társul, lupus családba tartozó kórkép kifejlődésére kell gondolni. Anti-centromer antitest (ACA) és anti-SCL70 antitest pozitivitás esetén szisztémás szklerózis későbbi kialakulása, digitális ulcerációk kifejlődése prognosztizálható [Wigley, 2002].

Felnőtt betegekben végzett prospektív vizsgálatok során ACA antitest 60%-ban szenzitív, 98%-ban specifikus volt CREST (Calcinózis, Raynaud-jelenség, Esophagus dysmotilitás, Sclerodactylia, Teleangiectasia) szindróma illetve limitált kután szkleroderma kialakulására.

Antifoszfolipid antitest (APL) pozitivitás a RF gyermekek közel 30 %-ban észlelhető antifoszfolipid szindrómára utaló jellegzetes klinikai tünetek nélkül [Nigrovic és mtsai., 2003].

Az immunszerológiai eredményeket a **körömágy-kapillármikroszkópos vizsgálat** eredményével együtt lehet értékelni. A kapillármikrószkópia egy egyszerű, non-invazív módszer a körömágy kapilláris szerkezetének ábrázolására. Az odavetülő halogén vagy higanygőz fényforrás mellett az ujjakon, a körömágy széli részén a bőrfelszínnel párhuzamosan haladó kapillárrendszer láthatóvá válik. Egészséges körömágy esetén a rendezett szerkezetben szabályos kapillárisokat észlelünk, szkleroderma spektrum során a kapillárisok rendezetlen lefutásúak, szimmetrikusan megnagyobbodott kapillárisokat, óriáskapillárisokat, avaszkuláris régiókat, neoangiogenezist, bevérzést észlelhetünk (**3.kép**).



3.kép: Kapillármikroszkópos eltérések

A kapilláris morfológia osztályozását szemlélteti **a 3.táblázat**.

I.: Negatív mintázat: normális kapilláris hurkok láthatóak.
II.: Szkleroderma gyanús mintázat: a körömágy disztális részén formájukat megtartott, de dilatált, 20-50 um-s kapillárisok.
III.: A körömágy disztális részén többszörösen tágult óriás vagy megakapillárisok vagy avaszkuláris területek észlelhetőek.
IV.: A körömágy proximális részén is vannak dilatált kapillárisok.
V.: A kapillárishuroknak a körömágy disztális és proximális részén extrém dilatációja látható.

3. táblázat: Kapillármorfológia osztályozása
(Czirják és mtsai., 2003 nyomán**)**

A felnőttek kapillármikroszkópos vizsgálati eredményét a fent ismertetett, s elterjedten használt Maricq-féle beosztás mellett a közelmúltban Cutolo és mtsai által publikált „korai", „aktív" és „késői" mintázat szerinti beosztás alapján is értékelik. Gyermekkorban a fenti osztályozási rendszerek nem terjedtek el, a nemzetközi ajánlás a „normál", „non-specifikus", illetve a „SSc mintázat"-ot javasolja [Pavlov-Dolijanović és mtsai., 2006].

A könnyen kivitelezhető technika alkalmas a primer RJ és szisztémás szklerózisos (SSc) betegek elkülönítésére [Maricq és mtsai., 1983; Gerbracht és mtsai., 1985; Klein-Weigel és mtsai., 2016; Pain és mtsai., 2016; Smith és mtsai., 2016]. A jellegzetes eltérések már akkor észlelhetőek, amikor szisztémás szklerózisra utaló klinikai tünetek még nem alakultak ki [Lambova és mtsai., 2009]. Szkleroderma rajzolatot mutató Raynaud-szindrómás betegek követése szükséges, mert a későbbiekben szkleroderma családba tartozó kórkép kialakulása fordulhat elő [Nagy és mtsai., 2004; Pavlov-Dolijanović és mtsai., 2006].

A kapillármikroszkópia a nem differenciált kollagenózis, valamint a gyulladásos miopátiák diagnosztikájában is segítséget nyújthat [Nagy és mtsai., 2004; Bertolazzi és mtsai., 2017].

A napjainkban elsődlegesen használt video-kapillármikroszkópia lehetővé teszi a mintázat nyomon követését, a progresszió mértékének megítélését [Sekiyama és mtsai., 2013].

Autoantitest pozitivitás és kapillármikroszkópos eltérés együttes előfordulása esetén kötőszöveti betegség 80%-ban fejlődik ki, a fenti vizsgálatok önmagukban észlelt eltérése esetén a kórkép kifejlődése 47% volt [Sullivan és mtsai, 1984; Lambova és mtsai, 2009; Pain és mtsai, 2016].

Szekunder Raynaud-jelenség észlelése esetén alapvetően fontos szisztémás autoimmun betegségek irányában diagnosztikus vizsgálatok elvégzése az esetlegesen társuló szervi károsodások felmérése céljából. A szervi érintettség kizárása céljából kardiológiai szakvizsgálat (EKG, Echokardiográfia), intersticiális tüdőérintettség kimutására mellkas röntgen, diffúziós kapacitás meghatározással légzésfunkció, szükség esetén high-resolution computed tomography (HR-CT) javasolt. A gasztrointestinális érintettség megítélésére kontrasztanyagos nyelési röntgen, endoszkópos vizsgálat elvégzése lehet szükséges, vesefunkció felmérése 24 órás vizeletvizsgálat során lehetséges.

A mikrocirkuláció **funkcionális vizsgálata** non-invazív és invazív, mint biopszia, intradermálisan alkalmazott gyógyszeres kezelés módszereivel vitelezhető ki.

Az 1970 évek óta alkalmazott non-invazív vizsgálat, a **lézer-Doppler flowmetria (LDF)**. A módszer Doppler-elven alapszik, a készülék által kibocsátott monokromatikus lézerfény a vizsgált szövetben kismértékben elnyelődik, illetve döntő mértékben visszaverődik. A mozgó vörösvértestekről visszaverődő fényhullám frekvenciája megváltozik, mely arányos a vizsgált szövetrészletben mozgó vörösvértestek számával és átlagos mozgási sebességével. A detektor által érzékelt frekvenciaváltozásból a vizsgált szövettérfogat kapillárisáramlását a készülék

kiszámítja. A lézerfény körülbelül 1-2 mm felületen 1-1,5 mm mélyre hatol, így a vizsgált szerv, leggyakrabban a bőr, 1-1,5 mm-s mélységének a keringését vizsgálja. A szöveti áramlást a perfúziós egység mérőszámmal jellemezhetjük. A módszer a Raynaud-jelenség, a kötőszöveti betegségben szenvedők mikrocirkulációjának elemzése [DelBianco és mtsai., 2001; Pauling és mtsai., 2015; Maga és mtsai., 2016] mellett gyakran alkalmazott eljárás a diabéteszes mikroangiopátia, ateroszklerózis, égési sérülések vizsgálata során is [Skrha és mtsai., 2001; Nadkarni és mtsai., 2008; Jaskille és mtsai., 2010] (**4.kép**).

4.kép: LDF vizsgálat

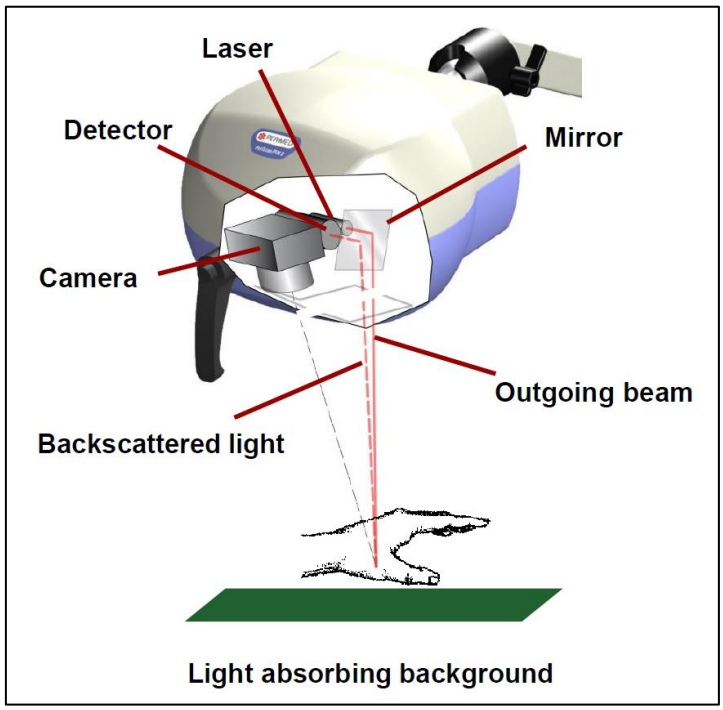
A funkcionális módszerek közül a melegítésre, hűtésre, okkluzióra adott mikrovaszkuláris válaszok vizsgálata a leggyakrabban alkalmazott eljárás [Picart és mtsai., 1998; Boignard és mtsai., 2005; Gaillard-Bigot és mtsai., 2014]. Lokális hűtés hatására mind az alapáramlás, mind a stimulus befejeződését követően a perfúzió rendeződése elhúzódó volt primer és szekunder RS-s és SSc betegekben is a kontrollokhoz képest [Rosato és mtsai., 2011; Roustit és mtsai., 2011]. Számos tanulmányban a felnőtt SSc betegek poszt-okklúzív válaszának amplitúdója és kinetikája szignifikánsan különbözött a primer RF és egészséges kontrollokhoz viszonyítva. A

funkcionális módszerek közül a hő-indukálta mikrocirkuláris vizsgálatok azonban érzékenyebb módszernek bizonyultak a kórkép súlyosságának megítélése, progressziójának előjelzése szempontjából is [Blaise és mtsai., 2014].

Az érzékeny eljárás hátránya a nehéz reprodukálhatósága, illetve az eredményét befolyásoló számos tényező, mint például a bőr vastagsága, illetve a mérés során fellépő mozgási műtermékek kiküszöbölése.

A fenti tényezők kiküszöbölésére az 1990-s években a **laser speckle contrast analysis** (LASCA) készülék került bevezetésre.

Lézer fény hatására a fényt visszaverő szövetekből ún. lézer speckle, lézer petty mintázat alakul ki. A készülék detektora érzékeli a szöveti irregularitásból származó eltérő visszaverődést, világos és sötét mintázatot alkotva, melyet színkódolt és numerikus adatokkal jellemez (**5.kép**).



5.kép: LASCA vizsgálat

A képalkotó eljárás a többi módszerekkel ellentétben nagyobb területek vizsgálatára ad lehetőséget. A szöveti felszínt a kijelölt területeken (Regions of Interest, ROI) térképezi fel, de csak a superficiális, 300 μm mély területek perfúziójának analízisére alkalmas. Bár a módszer során a vizsgált területtel közvetlen érintkezés nem történik, a mozgási műtermékekre nagyon szenzitív.

A vizsgálat segítségével egyetlen expoziciós időben van lehetőség a vizsgált terület perfúziójának, illetve a reaktív változásoknak az objektív rögzítésére. Az egyéb non-invazív áramlási vizsgálatokkal összehasonlítva, a perfúzió illetve változásának jobb időbeli és térbeli rögzítését teszi lehetővé [Eriksson és mtsai, 2014; Vaz és mtsai, 2016].

A LASCA a bőr mikrocirkulációjának vizsgálata mellett [Dunn és mtsai., 2001; Crouzet és mtsai., 2015; Pauling és mtsai., 2015], a retina [Kiyota és mtsai., 2017] ereinek, illetve az agyi mikrocirkuláció elemzésére [Shin és mtsai., 2008; Obadia és mtsai, 2017] is használható.

Terápia

A Raynaud-jelenség esetében oki terápia nem létezik, a kezelési lehetőségek korlátozottak. A kórkép kezelésének megválasztása a keringési zavarok súlyossága, a jelentkezésbeli gyakorisága, az életmódra kifejtett hatása alapján történik.

Életmódbeli tanácsokkal jelentős eredményeket lehet elérni (Brown és mtsai.,2013). A hideg elleni fokozott védekezéssel, az öltözködési szokások megváltoztatásával (meleg kesztyű és zokni viselése), illetve az érintett területek fokozatos melegítésével csökkenthető a rohamok gyakorisága és súlyossága. Alapvető fontosságú a dohányzási tilalom és a kiváltó faktorok kerülése. Digitális sebek, ulcerációk esetén lokális kezelés (dezinficiens, lokális antibiotikum terápia) szükséges.

A **gyógyszeres kezelés** alapja a vazoreguláció befolyásolása vazodilatátorokkal, vagy a vazokonstrikció gátlásával. A vazodilatátorok alkalmazás közül a kálciumcsatorna-blokkolók használata terjedt el szélesebb körben [Thompson és mtsai., 2005; Prete és mtsai., 2014; Rirash és mtsai., 2017]. A nagyobb dózisban alkalmazott kálcium antagonista kezelés hatására a tünetek gyakorisága, súlyossága csökkent, mely változást elsősorban a primer RF csoportban észlelték. A fenti kezelés hatástalansága, illetve súlyosabb klinikai tünetek jelentkezése esetén kedvező hatás érhető el pentoxifilllin, illetve prosztanoidok, iloprost, alprostadil alkalmazásával is [Levien**.**, 2010; Hughes és mtsai., 2016; Poredos és mtsai., 2016]. Szekunder RS jelentkezése esetén, foszfodiészteráz-5 inhibitor, például sildenafil terápia is alkalmazható [Herrick, 2016; Linnemann és mtsai., 2016].

II. AKROCIANÓZIS

A kórkép az *akron* (végtag) és a *kyanos* (kék) szóból ered, 1896-ban Crocq írta le. A betegség jellegzetes tünete a perzisztáló, gyakran szimmetrikusan jelentkező kékes bőrelszíneződés, mely leggyakrabban a kézen, ritkábban a lábon illetve az arcon jelentkezik. A fájdalom ritka tünet, elsősorban a kórkép súlyosabb formája, az ulceráció jelentkezése esetén észlelhető [Heidrich, 2010].

Pontos incidenciája nem ismert. Gyakrabban fordul elő gyermekekben és fiatal felnőttekben, jellegzetes tünet koraszülöttekben is [Creager és mtsai., 2005; Engle és mtsai., 2005] (**6.kép**).

6.kép: Akrocianózis újszülöttben

Kialakulásában a hideg szerepe emelendő ki.

A betegség két csoportját különíthetjük el: a primer, idiopátiás formát, melynek hátterében kórok nem fedezhető fel, és a szekunder formát. A szekunder forma hátterében szisztémás autoimmun betegség, idegrendszeri károsodás, hematológia eltérés (hideg agglutinin

szindróma, esszentiális trombocitopénia, paroxizmális hideg hemoglobinuria), gyógyszerhatás állhat [Kurklinsky és mtsai., 2011].

A kórkép patogenezise nem pontosan ismert, de hátterében a bőr kis arterioláinak krónikus vazospazmusa és a kapillárisok és post-kapilláris venulák kompenzatórikus vazodilatációja állhat [Das és mtsai., 2013].

A kórkép diagnózisa a klinikai tüneteken alapul. Kórjelző laboratóriumi eltérés csak a szekunder formákban észlelhető. A kapillármikroszkópos vizsgálat során megvastagodott kapillárisok, perikapilláris ödéma, hemorrágia ábrázolódik [Monticone és mtsai., 2000; Cannas és mtsai., 2002].

Az idiopátiás eredet esetében elfogadott terápiás javaslat nem létezik. A hideghatás kerülése alapvető jelentőségű. A RS kezelésében sikeresen alkalmazott kálciumcsatorna-blokkolók használata nem javasolt. Nikotinsav származékok és bioflavinoidok eredményes alkalmazásáról is beszámoltak [Kakimura, 1973; Merlen, 1982]. Súlyos esetekben szimpatektomia elvégzése szükséges [Di Lorenzo és mtsai., 1998, 2001].

A szekunder csoport esetén az alapbetegség felismerése és mielőbbi kezelése a kiemelten fontos. Immunszupresszív terápia és plazmaferezis sikerességét igazolták. [Talamo, 2008; Hattori, 2010].

III. ERITROMELALGIA

A korábban első leírójáról, Mitchell-betegségnek nevezett kórkép ritka perifériás vaszkuláris betegség. Elnevezése a görög erythros (vörös), melos (végtag) és algos (fájdalom) szóból ered, utalva a klinikai jellegzeteségre.

Pontos incidenciája nem ismert. Jellemzően az 5. évtizedben jelentkezik [Reed és mtsai., 2009], gyermekkorban rendkívül ritka betegség [Cook-Noris és mtsai., 2012].

A betegség jellegzetes tünete a palmaris, plantaris régiók meleg, piros elszíneződése, mely égő jellegű, heves fájdalommal társul. Az érintett terület duzzadt, verejtékes **(7.kép)**.

7. kép: Eritromelalgia

A tünetek kiváltásában a meleg, a fokozott fizikai aktívitás, az alkohol és koffein fogyasztás szerepe emelendő ki. A tünetek percektől akár napokig is fennállhatnak. A fájdalmas elszíneződés lokális hűtéssel illetve a végtagok felemelésével csökkenthető.

A betegségnek két formáját különíthetjük el. Az elsődleges kórforma hátterében egyéb betegség nem mutatható ki. A betegek 15%-nál a fájdalomközvetítésben szerepet játszó nátrium csatorna SCN9A gén mutációja áll [Davis, 2003; Wu és mtsai., 2013; Tang és mtsai., 2015]. A genetikai eltérés következtében fokozott szignál közvetítődik a gerincvelőhöz, illetve az agyhoz, mely magyarázza a jellegzetes klinikai tünetet.

A szekunder kórforma hátterében egyéb kórok áll. Leggyakrabban mieloproliferatív kórképhez (policitémia vera, esszenciális trombocitózis, mielofibrózis) társul, de gyógyszeres kezelés mellékhatásaként (bromocriptine, kálciumcsatorna-blokkolók), szisztémás autoimmun betegség (SLE, reumatoid arthritis), infekciók részjelenségeként is leírták [Zheng és mtsai., 1988; Mork és mtsai., 1999, 2000; Davis, 2003; Wu és mtsai., 2013; Tang és mtsai., 2015].

A kórkép diagnózisa a klinikai tüneteken alapul.

Terápiás ajánlás nem létezik. Fontos hangsúlyozni a kiváltó tényezők elkerülését, illetve a non-farmakológiás terápiák, mint a végtagok hűtésének szerepét. A lokális lidocain és amitriptilin kezelés mellett jó hatásról számoltak be szisztémás aszpirin, gabapentin, amitriptilin kezelés kapcsán [Krishnan és mtsai., 1996; Davis és mtsai., 2005]. A szekunder formák esetén az alapbetegsége kezelésével a tünetek megszűnnek.

CÉLKITŰZÉS

A gyermekkori Raynaud-jelenség serdülőkorban jelentkező funkcionális vaszkuláris betegség. Mindeddig kevés átfogó gyermekkori Raynaud tanulmány született.

A kórkép patomehanizmusában szerepet játszó centrális és perifériás tényezők szerepe nem pontosan ismert. Vizsgálatokat ezidáig elsősorban felnőtt betegek körében végeztek.

Munkánk célkitűzései a következők voltak:

I. A PTE KK Gyermekgyógyászati Klinikán RJ miatt szakvizsgálaton megjelent gyermekek adatainak retrospektív elemzésével a kórkép klinikai jellegzetességeinek, laboratóriumi és kapillármikroszkópos vizsgálati eredményeinek, illetve a társuló kórképek analízise.

II. Funkcionális non-invazív vizsgálati módszer (LDF) segítségével egészséges serdülők és primer Raynaud-jelenség diagnózisával gondozásban részesült betegek mikrocirkulációs paramétereinek összehasonlító vizsgálata.

    A vazoaktív szenzoros neuropeptidek szerepét már több betegségcsoportnál vizsgálták, ezért célul tűztük ki primer RJ betegekben a PACAP és szomatosztatin szerepének elemzését.

III. Acrocianózis diagnózisával kezelt betegünknél a mikrocirkuláció vizsgálata a betegség súlyosságának és a terápia hatásosságának megítélése céljából LAser Speckle Contrast Analysis (LASCA) vizsgálati módszer alkalmazásával.

Statisztikai elemzés

A RJ miatt gondozott betegek adatainak statisztikai elemzése leíró statisztikával (medián, minimum, maximum) történt. Magasabb szintű statisztikai elemzések χ^2-test Z-teszttel és Bonferroni korrekcióval, esélyhányadossal, Mann-Whitney U teszttel történtek. 95%-os valószínűségi szint mellett valósult meg, SPSS 24.0 statisztikai program segítségével.

A mikrocirkulációs adatokat a GraphPad Prism version 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA) segítségével analizáltuk. Az eredményeket az átlag ± SEM –ben fejeztük ki mindhárom csoportban. A vizsgált paraméterek normál eloszlását D'Agostino-Pearson és Shapiro-Wilk normality teszttel támosztottuk alá. Normál eloszlás esetén, az értékeket az one-way analysis of variance (ANOVA), majd a Newman-Keuls multiple comparison teszttel hasonlítottuk össze. Egyebekben, a Kruskal-Wallis tesztet, majd a Dunn's multiple comparison tesztet használtuk. Statisztikailag szignifikáns különbség a $p<0,05$ esetén állt fenn. A klinikai és mikrocirkulációs paraméterek közötti korrelációs koefficienst szintén vizsgáltuk.

VIZSGÁLATAINK

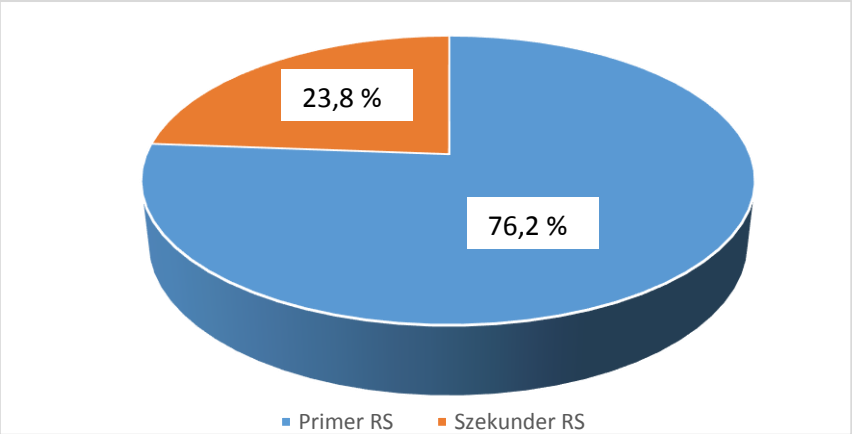
I. vizsgálat: Raynaud-szindrómás betegeink retrospektív vizsgálata a PTE Gyermekgyógyászati Klinikán

A retrospektív tanulmányunk során a 2010. január és 2017. január közötti időszakban Raynaud panaszokkal klinikánk immunológiai szakrendelésén megjelent gyermekek adatait elemeztük. Az adott időszakban vizsgálatainkat 180 gyermek bevonásával végeztük, viszont a teljes körű vizsgálatokat (imunszerológiai vizsgálatok, kapillármikroszkópia) csak 151 beteg esetén tudtunk kivitelezni, így további eredményeink, statisztikáink utóbbi csoport alapján készültek.

Demográfiai adatok, klinikai jellegzetességek

A vizsgált betegek demográfiai adatait mutatja a **4.táblázat**.

A betegek 76,2%-a a primer (115/151), 23,8%-a (36/151) a szekunder csoportba tartozott (**8.kép**). A női nem aránya 73,5% volt, az alcsoportok elemzése során a nemek tekintetében szignifikáns különbséget nem észleltünk ($p>0.05$). A klinikai tünetek átlagos jelentkezési ideje 11,97 év (9-15 év) volt, a tünetek jelentkezése és a diagnózis felállítása között átlagosan 2,16 (0.3-10) év telt el. A vizsgált paraméterek nem különböztek szignifikánsan a primer és szekunder Raynaud csoportban.



8.kép: Raynaud-szindrómás betegeink alcsoportmegoszlása

	Primer Raynaud	**Szekunder Raynaud**	**Összes beteg**
Betegek száma	115/151 (76,2%)	36/151 (23,8%)	151
Női nem	82/151 (54,3%)	29/151 (19,2%)	111/151 (73,5%)
Életkor a tünetek jelentkezésekor (év)	12,8	12,88	átlag:12,84
Diagnózisig eltelt idő (év)	2,2	2,1	átlag:2,15
Családban autoimmun betegség előfordulása	27/151 (17,8%)	5/151 (3,3%)	32/151 (21,2%)

4.táblázat: Betegeink válogatott demográfiai és anamnesztikus adatai

A betegek 21,2%-nál (32/151) az elsőfokú rokonok autoimmun betegség illetve RS miatt álltak gondozás alatt. A leggyakrabban RS (15) és RA (7) fordult elő, ezenkívül psoriázis (6), colitis ulceroza (2), SLE (1), és autoimmun tireoiditis (1) említendőek. Az elsőfokú rokonokban

jelentkező autoimmun betegségek előfordulása nem különbözött szignifikánsan a primer (23,5%) és a szekunder forma (13,9%) között (p>0.05).

Az anamnézisen és betegeink fizikális vizsgálati leletén alapuló Raynaud-jelenségre karakterisztikus színváltozást az **5.táblázat** mutatja be, a társuló klinikai tüneteket a **6.táblázat** reprezentálja.

Leggyakrabban (56,3%, 85/151) bifázisos eltérést (fehér → piros, kék → piros) észleltünk, trifázisos eltérés 39,7%-ban (60/151), míg monofázisos eltérés 4%-ban jelentkezett. A vizsgált paraméter megoszlása nem különbözött szignifikánsan a két csoport között.

	Primer Raynaud	**Szekunder Raynaud**	**Összes beteg**
Betegszám	115	36	151
Monofázisos	5 (4,3%)	1 (2,8%)	6 (4,0%)
Bifázisos	72 (62,6 %)	13 (36,1%)	85 (56,3%)
Trifázisos	38 (33%)	22 (61,1%)	60 (39,7%)

5.táblázat: A Raynaud-jelenség fázisainak megoszlása betegeink között

A jelenség kiváltásában a betegek elsősorban a hideg szerepét jelölték meg (91,4%, 138/151), a stressz kóroki szerepe 8,6%-ban (13/151) került felismerésre, mely nem különbözött a két vizsgálati csoportban. A tünetek a betegek 80,8%-ban (122/151) a kéz ujjain jelentkeztek, alsóvégtagi érintettség a betegek 19,2%-ban (29/151) volt észlelhető. A jellegzetes színelváltozás mellett a betegek 72,8%-a (110/151) számol be fájdalomról, érzéketlenség 59,6%-ban (90/151) volt jellemző klinikai tünet. Fájdalom esetén a gyerekek közel négyszer (OR=3.795; 95% CI:1.250-11.522), érzéketlenség jelenlétekor két és félszer (OR=2.476; 95% CI:1.070-5.730) gyakrabban tartoztak a szekunder RS csoportba. Elhúzódó sebgyógyulásról a

betegek 13,2%-a (20/151) számolt be, mely szignifikánsan nem különbözött a primer és a szekunder csoport között. A migrén gyakori (29,1%, 44/151) társuló panasz volt. Fejfájás esetén háromszor nagyobb eséllyel tartoznak a betegek a szekunder csoportba (OR=2.916; 95% CI:1.332-6.385).

RJ mellett a betegek 9,9%-ban (15/151) livedo retikularis volt észlelhető, mely bár gyakrabban észlelt jelenség volt szekunder Raynaud csoportban (16,7% vs. 7,8%), szignifikáns különbség a két alcsoport között nem állt fent. Szklerodaktilia 4%-ban (6/151) volt észlelhető. A betegek 11,9%-a (18/151) aszténiás alkatú volt, mely gyakoribb volt szekunder RS esetén, de szignifikáns különbség az alcsoportok között nem igazolódott.

Klinikai tünetek	**Primer Raynaud**	**Szekunder Raynaud**
Lokalizáció • **kéz** • **négyvégtagi**	95/115 (83%) 20/115 (17%)	27/36 (75%) 9/36 (25%)
Fájdalom, érzéketlenség	63/115 (55%)	27/36 (75%)
Elhúzódó sebgyógyulás	14/115 (12%)	6/36 (17%)
Livedo retikularis	9/115 (8%)	6/36 (17%)
Migrén társulása	27/115 (23%)	17/36 (47%)
Aszthéniás alkat	12/115 (10,4%)	6/36 (17%)

6.táblázat: Betegeink klinikai tünetei az alcsoportokban

Diagnosztikus vizsgálatok

A rutin **laboratóriumi vizsgálat** részeként hematokrit (Htc), haemoglobin (Hgb), fehérvérsejt szám, trombocita szám, perifériás kenet, C-reaktív protein (CRP), laktát dehidrogenáz (LDH), transzaminázok, véralvadási paraméterek és a szérum kreatinin kémiai analízise történt, mely során kórjelző eltérést nem észleltünk. Vizelet rutin vizsgálat negatív eredményű volt. A betegek 4%-ban (6/151) enyhén emelkedett (max.30 mm/óra) Westergreen értéket észleltünk. Az életkorspecifikus szérum immunoglobulin G érték négy betegnél (2,6%) emelkedett volt. Hat beteg (4%) esetében észleltünk thireoidea stimuláló hormon (TSH) szint eltérést, négy betegnél a későbbiekben autoimmun tireoiditisz fejlődött ki.

Az immunszerológiai vizsgálat során leggyakrabban ANA pozitivitás (9,3%, 14/151) volt észlelhető. Két betegnél a követéses során Nem Differenciált Kollagenózis (NDC) diagnózisát állítottuk fel, egyéb szisztémás autoimmun betegség nem alakult ki.

Anti-foszfolipid antitest 4%-ban (6/151) pozitív volt, bár a betegek Raynaud panaszai nem bizonyultak súlyosabbnak, a fizikális vizsgálat során livedo retikularist is észleltünk. Lupus antikoagulans teszt negatív volt. Antifoszfolipid szindrómára utaló klinikai tünetek nem fejlődtek ki.

Extrahálható nuklealis antitest (ENA) vizsgálat 2,6%-ban (4/180) bizonyult pozitívnak, két gyermeknél Nem Differenciált Kollagenózis diagnózisát állítottuk fel a gondozás során.

Anti-centromer antitest egy betegnél (0,7%) volt pozitív, mely súlyosabb klinikai tünetekkel nem társult. A beteg immunszerológiai eredményei közül enyhe ANA pozitivitás emelendő ki, kapillármikroszkópia során szkleroderma-gyanús eltérés ábrázolódott. A serdülő légzésfunkciós vizsgálata során enyhén csökkent diffúziós kapacitást észleltünk, mellkas HR-CT vizsgálat negatív eredményű volt.

Kapillármikroszkópos vizsgálat során a betegek 6%-ban (6/151) normál kapillármintázat ábrázolódott. Non-specifikus eltérés a betegek 78,1%-nál (118/151) mutatkozott, mely

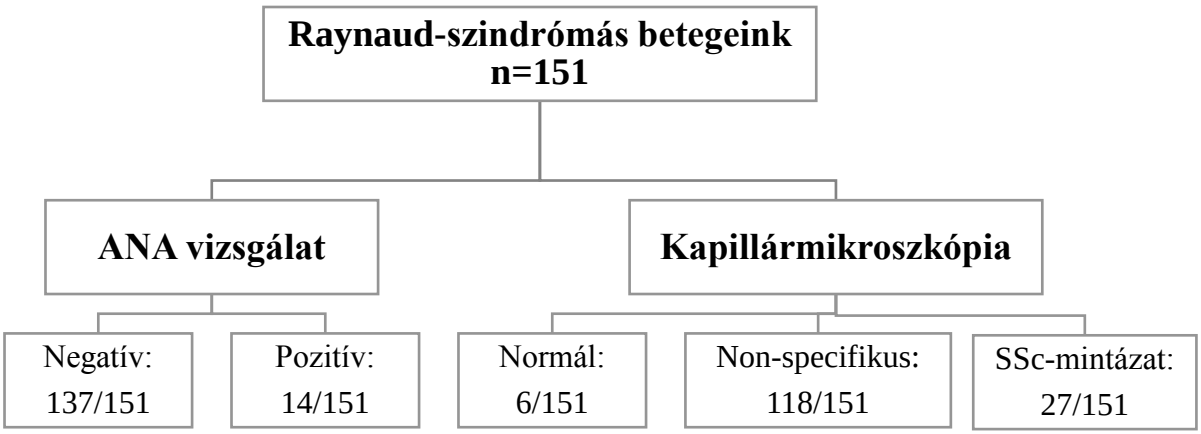
szignifikánsan gyakrabban volt észlelhető a primer RF (94%) csoportban a szekunderhez képest (29,7%, p<0,01). Szkleroderma gyanús mintázat a betegek 17,9%-ban (27/151) volt felismerhető.

Légúti panaszok hiánya ellenére 24 szekunder Raynaud betegnél légzésfunkciós vizsgálat történt, mely során 10 betegnél (6,6%) csökkent (<80) szén-monoxid diffúziós kapacitás (DLco) értéket észleltünk. High-resolution computer tomographia (HR-CT) alveolitisre utaló tejüveghomályt, ill. tüdőfibrózist nem mutatott. Szív és veseérintettség egy gyermeknél sem jelentkezett, gasztroözofágeális reflux 2,7%-nál igazolódott.

A társuló betegségek közül a leggyakoribb az allergiás rhinitis volt (14,6%, 22/151). A betegek 8,6%-a (13/151) korábban vagy gondozásunk során is szorongásos panaszok miatt pszihológiai gondozásban részesültek, mely gyakrabban volt észlelhető szekunder RS serdülők esetében (13,9% vs. 7%), de szignifikáns különbség az alcsoportok között nem igazolódott. A pszichés betegségben szenvedő Raynaud betegnél 6x nagyobb eséllyel észlelhető aszténiás alkat (OR=6.010; 95% CI: 1.713-21.078)

A társuló autoimmun kórképek közül autoimmun tireoiditis (6/151), cöliakia (3/151) fordult elő leggyakrabban, egy-egy gyermek gyulladásos bélbetegség, illetve psoriázis miatt is gondozásban részesült.

Betegeink diagnosztikus vizsgálatait összegzi az **1. ábra**.



1. ábra: **Raynaud-szindrómás betegeink vizsgálati eredményei**

A serdülők további gondozása 18. életévük betöltését követően a felnőtt immunológiai szakrendelésen történt, így a kórkép hosszútávú szövődményeiről nem áll módunkban beszámolni. 83 beteg követéses vizsgálatára volt lehetőségünk. A nyomonkövetési idő átlagosan 28,86 (0,2-113) hó volt. Nem észleltünk primer Raynaud-szindrómából szekunder Raynaud-szindróma csoportba váltást, két szekunder Raynaud-szindrómás betegünknél Nem Differenciált Kollagenózis (NDC) diagnózisát állítottuk fel. Az NDC-s betegek bőrjelenségei mind a négy végtagra terjedtek, kifejezett ujjzsibbadással, fájdalommal társultak. Jellegzetes bőrjelenség volt a fix livedo retikularis jelenléte. Immunszerológia során ANA, ill. ENA pozitivitás igazolódott, kapillármikroszkópos vizsgálatok során szkleroderma-gyanús eltérés ábrázolódott. Szervi érintettség közül gasztroözofágeális reflux emelendő ki. Légzésfunkciós vizsgálat során csökkent diffúziós kapacitást észleltünk, de HR-CT során kórjelző eltérés nem ábrázolódott. Definitív szisztémás autoimmun betegség nem fejlődött ki.

Gondozott betegeink közül az életmódbeli tanácsok mellett 64 beteg gyógyszeres terápiában részesült. Per os pentoxifillin kezelésben 10 (6.6%), intravénás terápiában 54 gyermek (35,8%)

részesült. Gyógyszeres kezelésben a szekunder RS betegek gyakrabban részesültek (52,8% vs 30,4%), de ez a különbség nem bizonyult szignifikánsnak.

II. vizsgálat: Primer Raynaud-szindrómás betegek funkcionális vaszkuláris vizsgálata

Vizsgálatunk célja a PTE KK Gyermekgyógyászati Klinikán primer Raynaud-jelenség diagnózisával gondozott betegek mikrovaszkuláris funkciójának vizsgálata volt. Tanulmányunk során a hő-indukálta perfúziós változásokat elemeztük a klinikai tünetek függvényében.

2015. március és április közötti időszakban 52 gyermeket vizsgáltunk klinikánkon.

A 27 primer Raynaud-jelenség miatt gondozás alatt álló gyermek adatait 25 korban és nemben egyező egészséges gyermek adataival hasonlítottuk össze.

Az egészséges gyermekek a helyi középiskolákba eljuttatott levélben történt felkérést követően, előzetes, részletes felvilágosítás és szülői beleegyezés után önként jelentkeztek a vizsgálatra. Az egészséges kontroll csoporthoz hasonló felvilágosítást és beleegyezést követően kerültek vizsgálatunkba a Raynaud-szindrómás betegeink.

A vizsgálat a Helsinki Nyilatkozat etikai alapelveinek megfelelően a Pécsi Tudomány Egyetem Etikai Bizottságának jóváhagyásával (5501/2015) történt. A vizsgálatba a résztvevő gyermekek és szüleik írásban is beleegyeztek.

A primer Raynaud-szindrómás betegek diagnózisát a LeRoy kritériumrendszer szerint állítottuk fel [LeRoy és mtsai., 1992]. Kapillármikroszkópia során szkleroderma-gyanús eltérést nem észleltünk, ANA vizsgálat negatív volt. A tanulmányban krónikus betegségben, mint diabetesz mellitus, hiperkoleszterinémia, hipertónia, kötőszöveti betegségben szenvedők ill. tartósan cigarettázó, drogfogyasztó betegek nem vehettek részt. Két beteg esetén nem volt értékelhető a perfúziós mérés, ezért a vizsgálatba nem vontuk be őket.

Vizsgálati protokoll

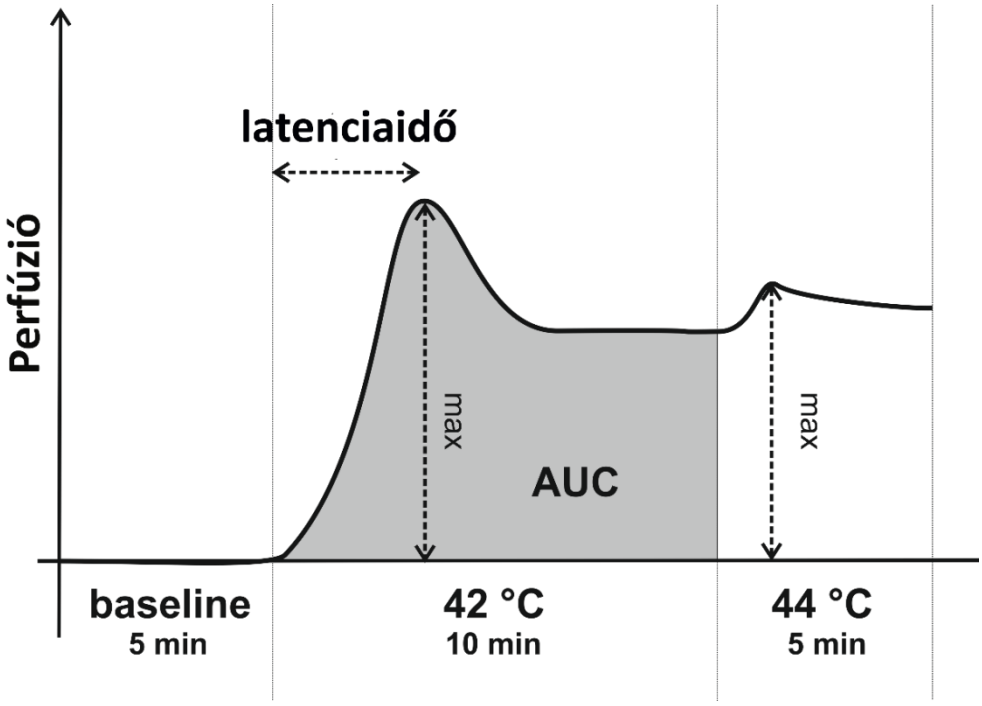
A serdülők a vizsgálat reggelén 7:30 és 9 óra között, éhgyomorral érkeztek a Gyermekklinikára. A vizsgálat egy csendes szobában történt, a szobahőmérséklet 23,0±0,5 °C volt.

Fizikális vizsgálatot követően testösszetétel meghatározás történt Tanita BC 420 MA Body Composition Analyser készülék segítségével [Lloret és mtsai., 2011]. A vizsgálatot követően hanyattfekvő helyzetben a felkarokat a szív magasságában elhelyezve kellett pihentetni. Öt perc múlva szívfrekvencia és vérnyomás mérés történt. Vénás vérmintavételt követően a laboratóriumi analízis során a szérum Htc, Hgb, fehérvérsejt, trombocita, kenet, WE, CRP, máj és vesefunkció, TSH, véralvadási teszt, szérum immunoglobulin szintek és C3,C4 meghatározására került sor. ELISA mószerrel végzett immunszerológiai vizsgálatokkal ANA, anti-dsDNA, ACA, antiC1Q, ENA, APL antitest titerszint mérés történt. Rutin vizeletvizsgálat történt veseérintettség kizárása céljából.

A vazoaktív szenzoros neuropeptidek meghatározásának előkészítése az alábbiak szerint valósult meg. A vérvételt követően azonnal peptidáz inhibitor aprotinint (200 IU/ vérminta ml; Gordox, Richter Gedeon, Budapest) adtunk az etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) tartalmú csőben levett mintához. A teljes vérből a plazmát 4 °C-n 4 percig 1000 fordulaton, majd 15 percig 4000 fordulaton centrifugáltuk le, a felülúszót -70 °C-n tároltuk. A peptideket radioimmunoassay módszerrel mértük.

A résztvevők 5 percig kényelmes helyzetben pihentek, a kezek rögzítve voltak a stabil pozíció megőrzése érdekében. A bal mutatóujj mikrocirkulációját Periflux 5000 system (Perimed AB, Stockholm, Sweden) lézer Doppler technológiával vizsgáltuk. A termosztatikus lézer doppler merő fejet (Probe 457) a mutatóujj disztális percére helyeztük. Az áramlásmérő (flowmeter) által regisztrált adatokat a készülékhez csatlakoztatott számítógép rögzítette. A készülék az áramlást perfúziós unitban (PU) fejezte ki, a változást az idő függvényében vizsgálta.

A vizsgálat első részében 5 percen keresztül 32 °C-n rögzített adatokat tekintjük a kiindulási (baseline) áramlásnak. Ezt követőn 42 °C-on 10 percen keresztül regisztráltuk az adatokat. A vizsgálat harmadik részében 5 percen keresztül 44 °C-on végeztük méréseinket. A vizsgálat menetét, a jellegzetes áramlás-görbét szemlélteti a **2.ábra**.



2. ábra: Lézer doppler vizsgálat folyamata

A vizsgálat során az alábbi mikrocirkulációs paramétereket vizsgáltuk:

- a hő indukálta hiperémia nagysága a görbe alatti területtel (area under the curve, AUC) jellemezve
- a maximális áramlás értéke 42 és 44 °C-on
- a maximális áramlásig eltelt idő (latencia)
- hő által kiváltott maximális perfúziónövekedés.

A hűtéses teszt a Raynaud tünetek fokozódása miatt nem volt kivitelezhető.

Eredmények

A vizsgálatban résztvevők klinikai és laboratóriumi jellemzői

A tanulmányban résztvevő 52 serdülő demográfiai és klinikai jellemzőit az **7.táblázat** mutatja. A RJ tüneteit mutató gyermekeket két csoportba osztottuk aszerint, hogy a vizsgálat során illetve az azt megelőző 2 hónapban voltak-e Raynaud tünetei. A kontroll csoportból 4 serdülőt a RJ csoportba soroltunk az anamnézis és fizikális lelet alapján észlelt Raynaud- jelenség miatt. Egy fiatal kivételével mindegyik résztvevő leány volt.

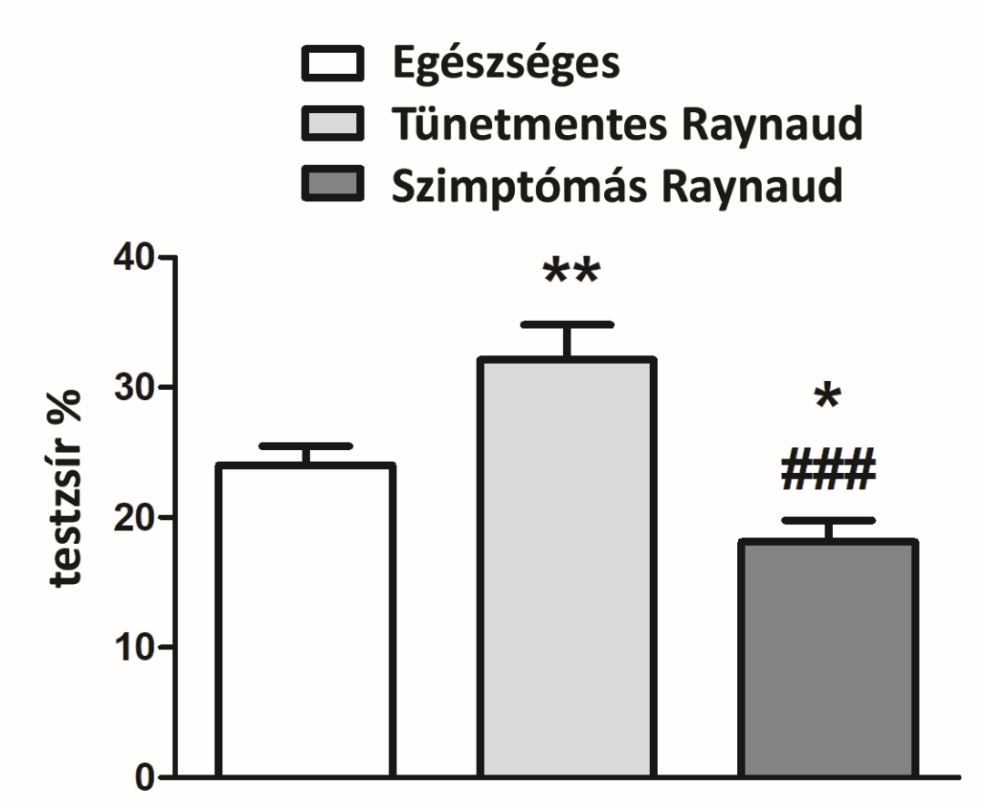
	Kontroll	**Tünetmentes Raynaud**	**Szimptómás Raynaud**
Eset	25	15	12
Kor (év)	16,5±0,2 (14,8-19)	16,6±0,4 (13,2-18,2)	16,2±0,4 (13-18)
Betegség időtartam (hónap)	-	23,2±4,9 (2,4-54)	38,4±6,9 (12-96)
Testzsír százalék (%)	24,0±1,5 (4,3-41,8)	32,1±2,7 (17,8-50,6)**	18,1±1,7 (8,2-27,4)*, ###
Body Mass Index (BMI)	22,0±0,8 (17,3-35,1)	26,2±1,8 (17,6-39,5)	18,78±0,4 (15,8-20,8) *, ###
Vérnyomás – középnyomás (Hgmm)	87,5±1,7 (73,3-107,0)	90,1±1,6 (82-101,3)	81,7±2,1 (71,7-97,0)*, #

7.táblázat: A serdülők demográfiai és klinikai jellemzői

Az eredményeket az átlag ± SEM –ben fejeztük ki mindhárom csoportban.
Statisztikai adatok**:***p<0.05, ** p<0.01 vs. kontroll; #p<0.05, ###p<0.001 vs. tünetmentes RJ

A tünetmentes RJ csoportban a betegség fennállásának időtartama 23,2±4,9 hónap volt, mely nem különbözött szignifikánsan a tüneteket mutató RJ csoporttól (38,4±6,9 hónap). A testösszetétel vizsgálat során a testzsírszázalék és Body Mass Index (BMI) adatokat hasonlítottuk össze.

A testzsír százalék a tünetmentes RJ csoportban szignifikánsan magasabb volt, a tünetes RJ csoportban szignifikánsan alacsonyabb a kontroll csoporthoz viszonyítva (**3.ábra**).

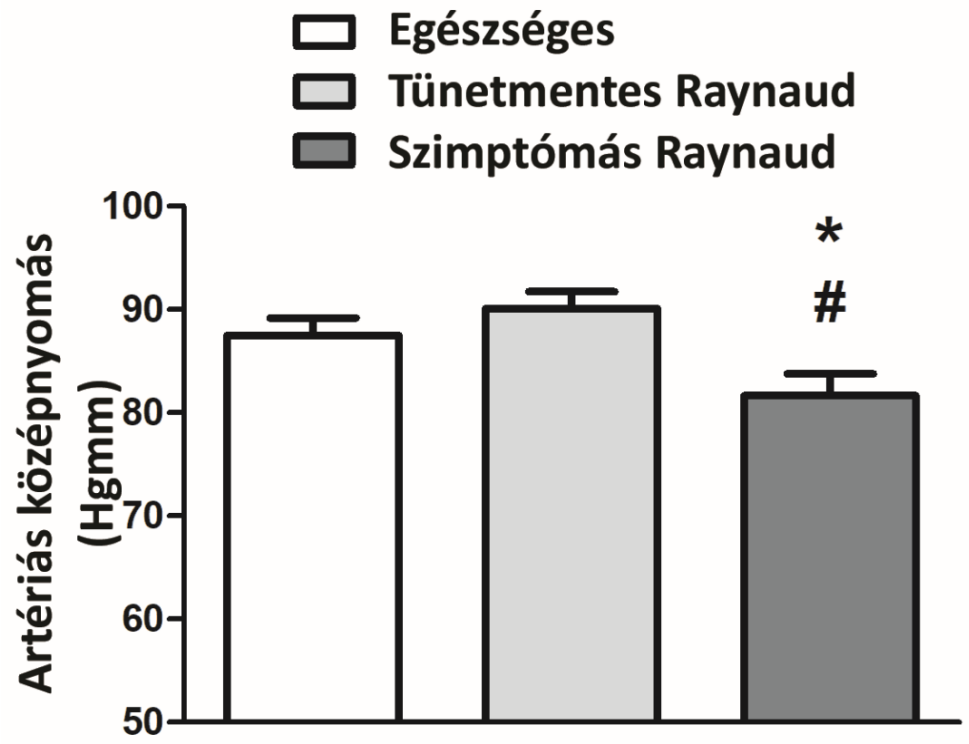


3.ábra: Testzsír százalék összetétel a vizsgálati csoportokban
Statisztikai adatok**:***p<0.05, ** p<0.01szimptómás vs. kontroll;
$^{\#}$p<0.05, $^{\#\#\#}$p<0.001szimptómás vs. tünetmentes RJ

A BMI szignifikánsan alacsonyabb volt a szimptómás RJ csoportban a kontroll és a tünetmentes csoporthoz képest. A tüneteket mutató csoportban egy serdülő súlyosan alultáplált, három sovány volt, de egyik gyermek sem volt anorexiás. A tünetmentes serdülők közül egy kórosan

sovány, négy obes testalkatú volt. A BMI értékeiben a RJ csoportok között szignifikáns különbség adódott.

A szimptómás RJ csoportban a vérnyomás értéke szignifikánsan alacsonyabb volt az egészséges és a tünetmentes csoporthoz képest (**3.ábra**).



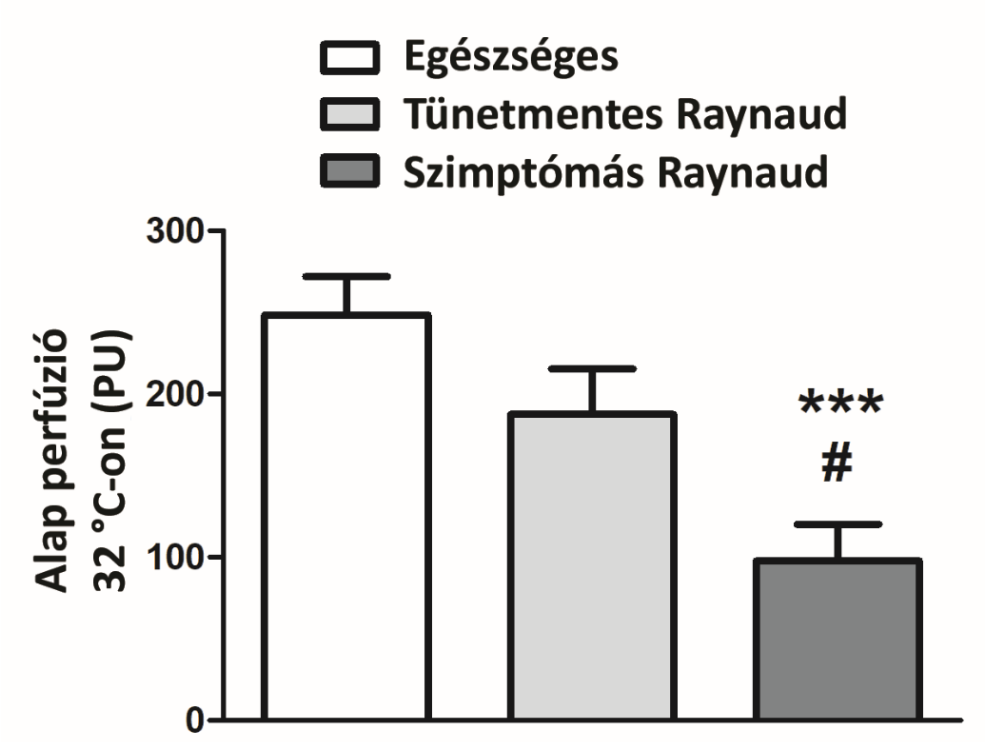
4. ábra: Vérnyomás értékei a három csoportban
Statisztikai adatok**:***p<0.05, ** p<0.01szimptómás vs. kontroll;
#p<0.05, ###p<0.001szimptómás vs. tünetmentes RJ

Laboratóriumi eredményeikben kórjelző eltérést nem észleltünk. Immunszerológiai vizsgálatok során egyik csoportban sem észleltük ANA, ENA, SCL-70, ACA, APL pozitivitást. A kapillármikroszkópia során szkleroderma spektrum eltérések nem voltak kimutathatóak. A RS betegeink vizsgálata során patológiásnak nem tekinthető non-specifikus eltéréseket

észleltünk, úgymint a kapilláris denzitás egyenetlensége, a kapillárisok egyenetlen eloszlása, a kapilláris hurkok lineáris meghosszabbodása.

A mikrocirkulációs károsodás betegeinkben

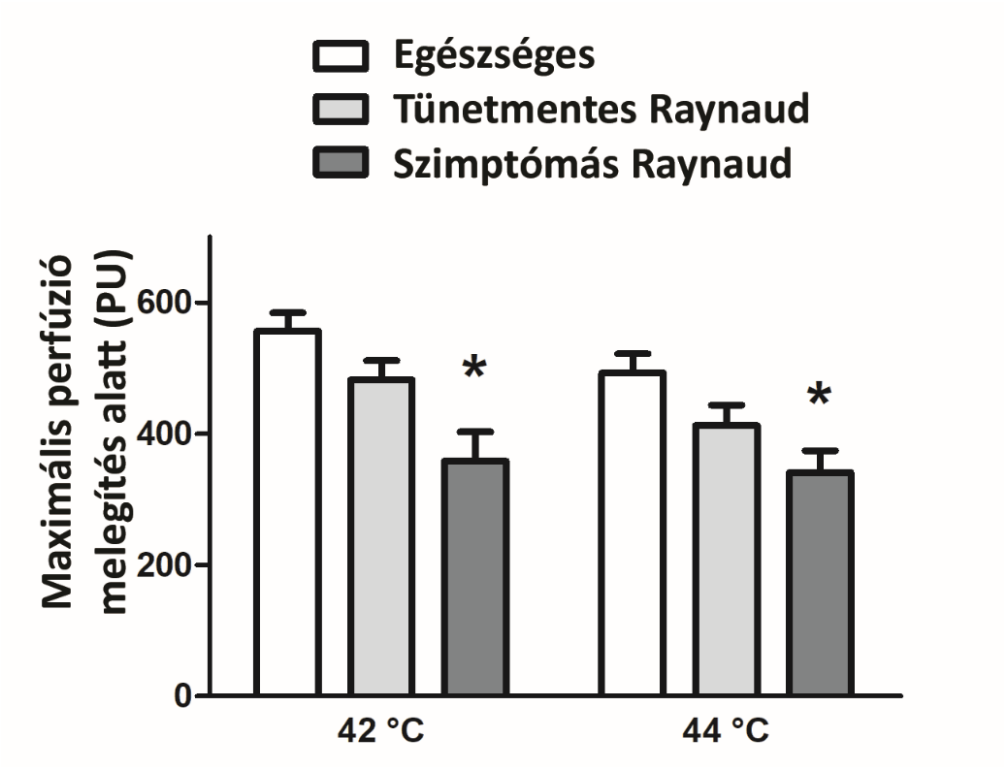
A 32 °C-n mért kiindulási áramlás 97,6±22,4 perfúziós unit (PU) volt a szimptómás RJ csoportban, mely szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult a kontroll (248,3±23,5 PU, p<0,001) illetve a tünetmentes csoporthoz (187,4±27,9 PU, p<0,05) képest. A kontroll és a tünetmentes csoport értékei között szignifikáns különbség nem volt (**5.ábra**).



5. ábra: Kiindulási áramlási paraméterek 32 °C-n
Statisztikai adatok:*p<0.05, ** p<0.01szimptómás vs. kontroll;
#p<0.05, ###p<0.001szimptómás vs. tünetmentes RJ

A 42 °C, majd 44 °C fokra történő melegítés hatására a bőr vérátáramlása fokozatosan emelkedett.

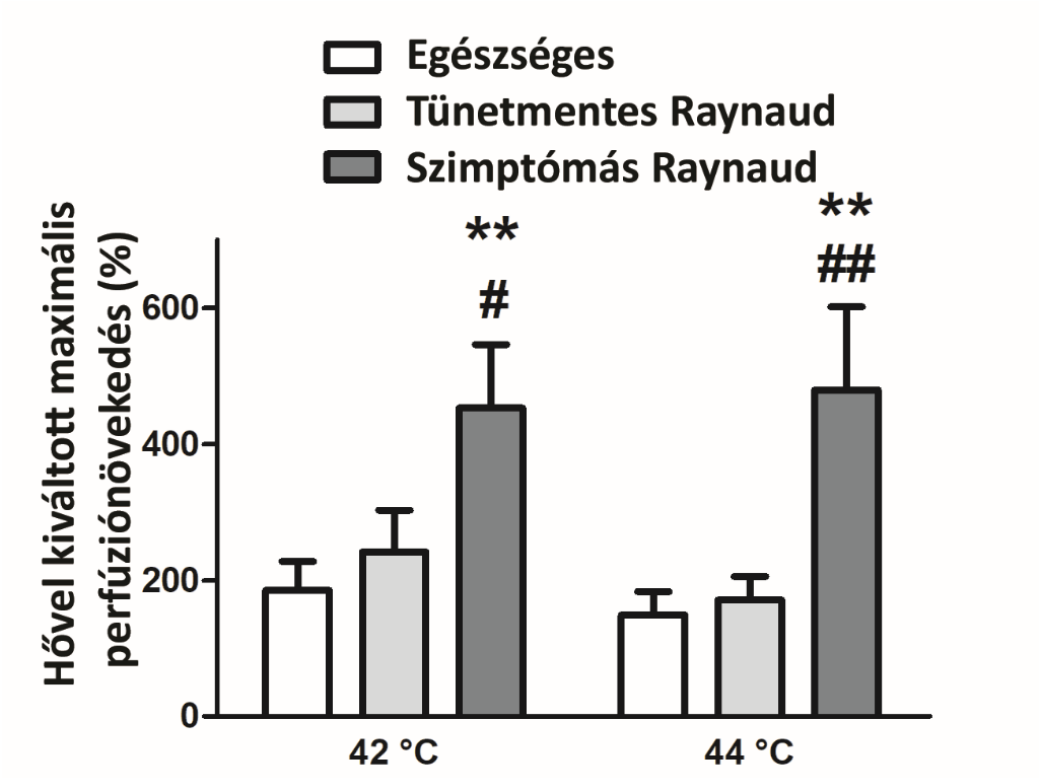
A 42 °C–on mért maximális perfúzió szignifikánsan alacsonyabb volt a szimptómás RJ csoportban (358,6±43,9 PU) az egészséges serdülőkhöz (555,9±8,2 PU, p<0,05) képest. Azonban szignifikáns különbség a melegítésre adott válasz jelen paraméterében nem volt észlelhető a kontroll és az aszimptómás csoport (482,3±28,7 PU) illetve a két Raynaud csoport között sem (**6.ábra**).



6. ábra: Véráramlás maximális értékei 42 °C ill. 44 °C-n ()
Statisztikai adatok**:***p<0.05, ** p<0.01szimptómás vs. kontroll;
#p<0.05, ###p<0.001szimptómás vs. tünetmentes RJ

A melegítéssel kiváltott maximális perfúziónövekedés esetén szignifikánsan nagyobb változás volt észlelhető a szimptómás RJ (452,9±93,4 %) serdülőknél a kontroll (185,1±42,5 %, p<0,01), illetve a tünetmentes RJ csoportjához (241,7±61,5 %, p<0,05) képest. Az egészséges serdülők

42 °C-n mért perfúziós értéke, illetve a százalékos változás nem különbözött a tünetmentes RJ csoporthoz képest (**7.ábra**).

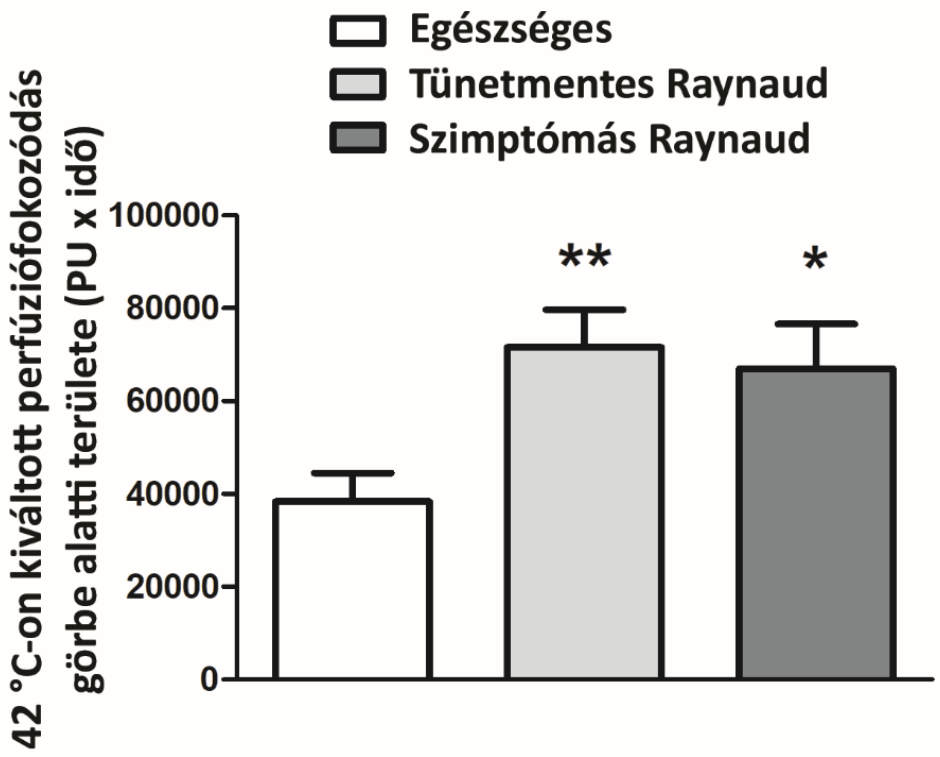


7. ábra: Áramlásnövekedés % -ban kifejezve
Statisztikai adatok**:***p<0.05, ** p<0.01szimptómás vs. kontroll;
#p<0.05, ###p<0.001szimptómás vs. tünetmentes RJ

A 44 °C-ra történt melegítés során hasonló perfúziós változásokat és sztatisztikai eredményeket észleltünk, mint a 42 °C-ra történt melegítés során.

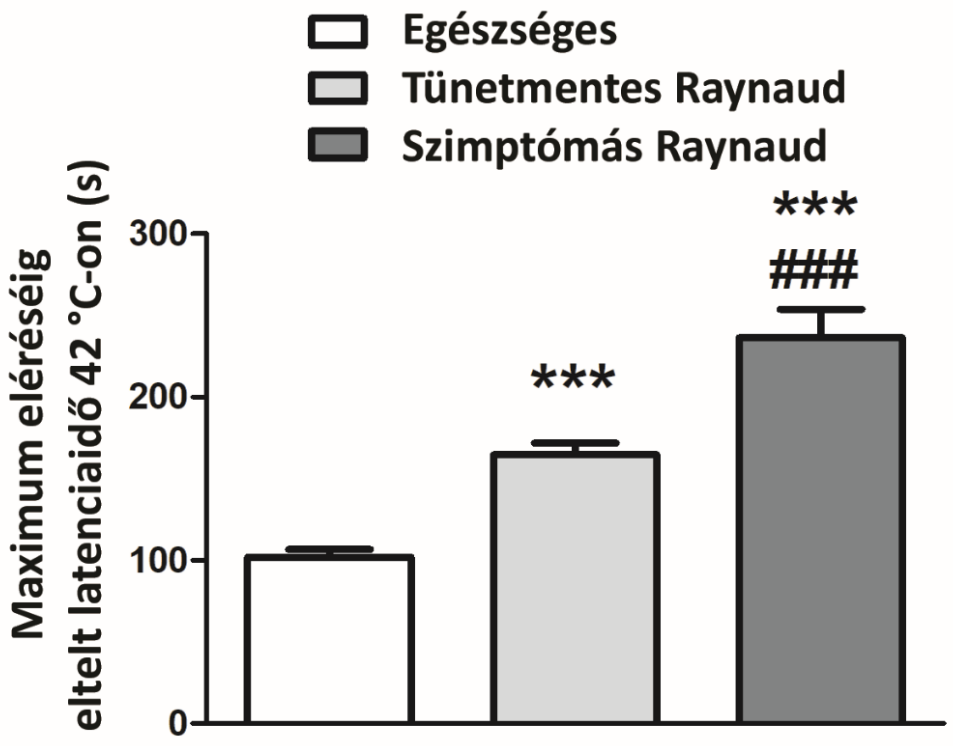
A hő-indukálta kinetikai változások különböztek a RS serdülőkben és az egészséges csoportban. A 42 °C-on mért AUC értéke szignifikánsan nagyobbnak bizonyult mindkét RJ

csoportban az egészségesekhez képest. A RJ alcsoportjai között szignifikáns különbség nem mutatkozott. (**8.ábra)**.



8. ábra: AUC értékei a beteg illetve kontroll csoportban
Statisztikai adatok**:***p<0.05, ** p<0.01szimptómás vs. kontroll;
#p<0.05, ###p<0.001szimptómás vs. tünetmentes RJ

A 42 °C–ra történő melegítés során a maximális perfúzió eléréséig eltelt latencia idő szignifikánsan hosszabbnak bizonyult a betegeknél (szimptómás:236,4±17,4 sec, tünetmentes:164,6±7,4 sec) a kontroll csoporthoz (101,9±4,7 sec, p<0,001 mindkét esetben) viszonyítva. A latencia idő szignifikánsan különbözött a RS két alcsoportjában (p<0,001, **9.ábra**).



9.ábra: Latencia idő jellemzői
Statisztikai adatok**:***p<0.05, ** p<0.01szimptómás vs. kontroll;
$^{\#}$p<0.05, $^{\#\#\#}$p<0.001szimptómás vs. tünetmentes RJ

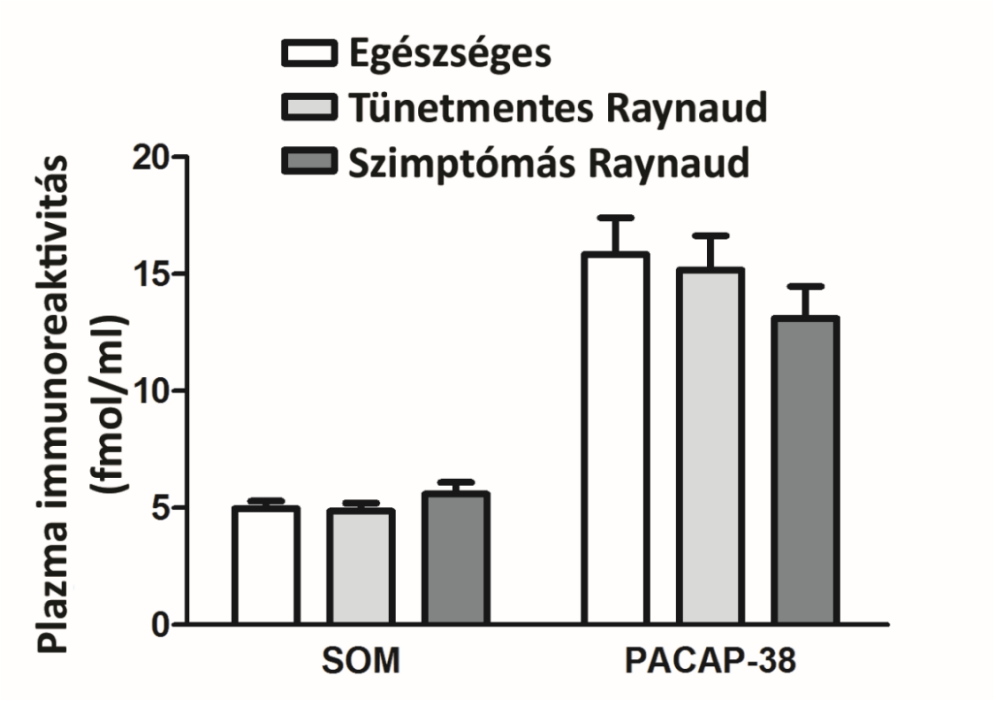
A mikrocirkulációs paraméterek és a résztvevők vérnyomása, testzsír százaléka és a betegség időtartama között szignifikáns korreláció nem mutatkozott.

Vazoaktív szenzoros neuropeptid szint értékei

A vazoaktív szenzoros neuropeptidek, úgymint a PACAP-38 és a szomatosztatin szintje mérhető volt a szisztémás keringésben. Szignifikáns eltérés azonban nem mutatkozott a szérum szintek vizsgálata során a három alcsoportban (**8.táblázat, 10.ábra**).

	Kontroll	Tünetmentes Raynaud	Szimptómás Raynaud
Szomatosztatin (fmol/ml)	4,9±0,3	4,9±0,4	5,6±0,5
PACAP-38 (fmol/ml)	15,8±1,6	15,2±1,5	13,1±1,4

8. táblázat: Szenzoros neuropeptidek szérumszintje
Az eredményeket az átlag ± SEM –ben fejeztük ki mindhárom csoportban.



10. ábra: Szenzoros neuropeptidek vizsgálati eredményei

III. vizsgálat: Akrocianózisban szenvedő posztinfekciózus betegünk esetének bemutatása és funkcionális vaszkuláris vizsgálata

Vizsgálatunk során egy acrocianózis diagnózisával klinikánkon ápolt leánygyermek esetén egy új diagnosztikus módszerrel vizsgáltuk a mikrocirkulációs károsodás mértékét és a terápiára adott választ.

Anamnézis, klinikai tünetek

A kilenc éves gyermeknél klinikai felvételét megelőző két hétben hőemelkedése és improduktív köhögés jelentkezett. Az alapellátás amoxicillin-klavulánsav és inhalatív flutikazon proprionát és szalbutamol terápiát kezdett. A légúti tünetek kezdetét követő második héten a kéz ujjainak fájdalmas, kékes elszíneződése jelentkezett, mely a hideg hőmérsékletre súlyosbodott. A fenti tünetek miatt utalták klinikánk sürgősségi osztályára.

Az akutan jó általános állapotú gyermek fizikális vizsgálatakor a kéz illetve láb ujjainak kifejezetten hideg tapintatát, kékes elszíneződését észleltük. Az akrális területek érintése során a gyermek kifejezett érzékenységet jelzett. A jobb kéz mutatóujjának disztális ujjpercén nekrózis volt észlelhető. Szklerodaktilia nem volt (**9.kép**).

9.kép: Súlyos akrocianózis fekéllyel

A radiális és axillaris pulzusok regulárisak, jól tapinthatóak voltak. Vérnyomásértéke és szívfrekvenciája életkorának megfelelő volt. Addson teszttel a thoracic outlet szindrómát (TOS) a tünetek háttében kizártuk. Belszervi statusából a fentieken kívül a jobb középső lebeny felett észlelhető krepitáció emelendő ki.

Vizsgálati eredmények

A rutin laboratóriumi vizsgálatok részeként végzett vérkép, kenet vizsgálat, CRP, LDH, transzamináz, TSH, véralvadási teszt és szérum kreatinin szint normál tartományban volt. Süllyedés (WE) értéke enyhén emelkedett (20 mm/óra). Vizelet rutin vizsgálat hemolizisre nem utalt. Szérum immunglobulin és komplement (C3, C4) szintekben kórjelző eltérést nem észleltünk, crioglobulin nem volt kimutatható. Direkt antiglobulin teszt (Coombs) során hideg agglutinin volt detektálható. Immunglobulin M molekulát legmagasabb koncentrációban 4 °C-n lehetett kimutatni, szobahőmérsékleten a reaktivitása csökkent, 37 °C-n inaktívvá vált (**9.táblázat**).

Vizsgálat napja	**4 °C**	**15 °C**	**20 °C**	**25 °C**
2014.12.10.	++++	++	+	-
2015.05.20.	+++	++	+/-	-
2016.01.10.	+++	++	-	-

9.táblázat: Hideg agglutinin aktivitás.
A szemiquantítatív aktivitást +- tól 4+ értékben kifejezve

Immunszerológiai eredményei közül emelkedett anti-nukleoszóma antitest (76.9 UI/ml, normal < 20 UI/ml) emelendő ki, egyéb autoantitest (ANA, dsDNS, ACA, ENA, anti-C1Q, APL, anti-

saccharomyces cerevisie antitest, anti-neutrophil citoplazmatikus antitest) titer normál tartományban volt.

A tünetek hátterében felmerült infekciós eredet miatt végzett szerológiai vizsgálati eredmények az Epstein-Barr vírus, Cytomegalo vírus, Varicella zoster vírus, human immunodeficiency vírus (HIV) -1,-2, Parvovírus B19, Hepatitis -A, -B, -C, -E vírus, Chlamydia pneumoniae kóroki szerepét kizárták. Az antistreptolysin-O titer normál tartományban volt. A Venereal Diseases Research Laboratory (VDRL) teszt negatív eredményt adott.

A Mycoplasma pneumoniae IgM és IgA antitest titer jelentősen, IgG enyhén emelkedett volt, mely nemrégiben lezajlott fertőzésre utalt.

Mellkas röntgen vizsgálat során jobb oldali pneumonia ábrázolódott, hasi ultrahang kórjelző eltérés nélküli volt. Echokardiográfia struktúrális eltérést nem mutatott, Doppler ultrahang vizsgálat során az erekben normál áramlás volt detektálható. Körömágy-kapillármikroszkópia során elágazó kapillárisok ábrázolódtak. Szemészeti szakvizsgálat során vaszkulitiszre utaló eltérés nem ábrázolódott.

A fizikális vizsgálati lelet és a laboratóriumi eredmények alapján a tünetek hátterében Mycoplasma pneumoniae indukálta hideg agglutinin betegség és az általa kiváltott akrocianózis állt. Az autoimmun és drog indukálta akrocianózist a kórtörténet és a laboratóriumi eredmények alapján kizártuk.

Gyógyszeres terápia

A fertőzésre tekintettel 2 héten keresztül per os claritromicin terápiában és hetente három alkalommal intravénás pentoxifillin (200 mg/dózis) kezelésben részesült. A vazodilatatív kezelés során mellékhatás, mint hipotenzió, fejfájás nem jelentkezett. A klinikai tünetek javulásának megfelelően az infúziós kezelés gyakoriságát csökkentettük, a terápia bevezetését

követő 3. hónaptól két hetente részesült a gyermek a fenti gyógyszeres kezelésben, 12 hónapon keresztül. Tekintettel a klinikai tünetek javulására plazmacsere nem vált szükségessé.

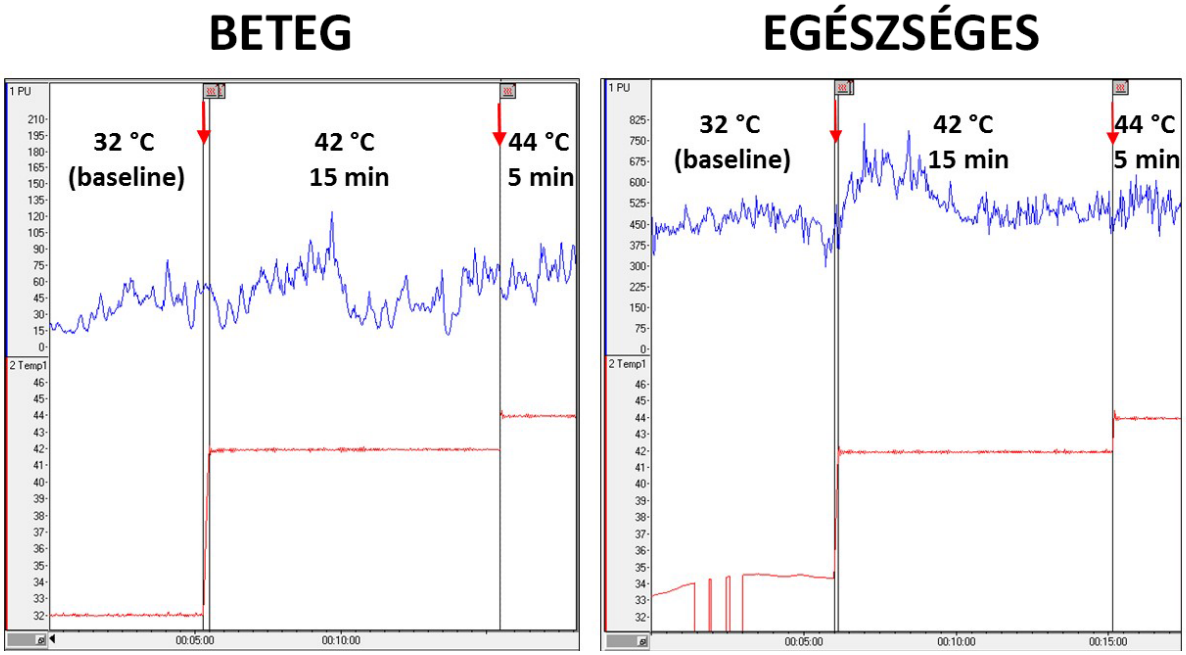
A gyógyszeres terápia mellett a szülők és a gyermek figyelmét felhívtuk arra, hogy a végtagok melegen tartása, kesztyű viselése alapvetően fontos a gyógyulás szempontjából.

Funkcionális vizsgálatok

A tartósan észlelhető klinikai tünetekre tekintettel, a szöveti viabilitás, a szöveti károsodás és mikrovaszkulatura reaktivitásának megítélése céljából két non-invazív vizsgálatot végeztünk. Funkcionális vaszkuláris vizsgálat céljából a Lézer Doppler Flowmetry (LDF) elven működő Periflux 5000 készüléket (Perimed AB, Stockholm, Sweden) alkalmaztuk. A vizsgálat az előző fejezetben ismertetett módon történt. Az egészséges kontroll gyermek eredményéhez viszonyítva súlyosan csökkent kiindulási áramlás volt detektálható, melegítés hatására elhúzódó vazodilatáció volt észlelhető (**10.táblázat, 10.kép**).

	Áramlás 32 °C-n (arbitrary units)	**Maximum perfúzió 42 °C-n** (arbitrary units)	**Maximum perfúzióig eltelt idő** (min)
Beteg	36,14	126,74	4:12
Egészséges	455,70	811,65	0:51

10.táblázat: A Periflux 5000 készülékkel mért áramlási adatok és hő-indukálta perfúziós növekedés betegünk és egészséges gyermek esetében.
44°C mért adatokat a táblázat nem tartalmazza, mert a perfúziós értékekben növekedés nem volt észlelhető.

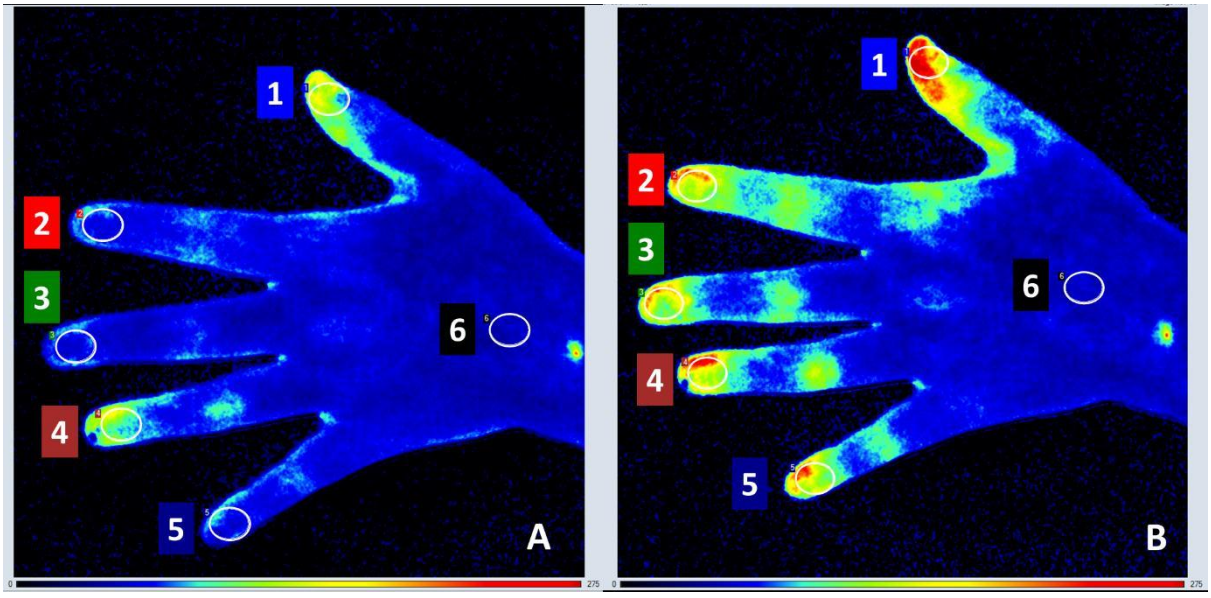


10.kép: Áramlási paraméterek betegünkben egészséges kontrollhoz viszonyítva

A LAser Speckle Contrast Analysis (LASCA) módszerén alapuló PeriCam PSI készülék (Perimed AB, Stockholm, Sweden) lehetőséget nyújt nagyobb, kijelölt testterületek (ROIs) egyidejű vizsgálatára. Betegünk esetében az akrális területeken kifejezetten csökkent perfúziót észleltünk. A pentoxifillin kezelés befejezését követően egy órával a vizsgált területeken az áramlás jelentős emelkedését tapasztaltuk (**11.táblázat, 11.kép**).

	Átlag áramlás (arbitrary unit) pentoxyphyllin kezelés előtt	**Átlag áramlás (arbitrary unit) pentoxyphyllin kezelést követően**	**Növekedés (%)**
1. ROI (1. ujj)	122,80	212,39	73,0%
2. ROI (2. ujj)	67,49	135,78	101,2%
3. ROI (3. ujj)	62,73	132,73	111,6%
4. ROI (4. ujj)	104,19	149,49	43,5%
5. ROI(5. ujj)	69,96	139,38	99,2%
6. ROI (kézhát)	49,68	56,30	13,3%

11.táblázat. PeriCam PSI készülékkel mért áramlási adatok az ujjakon pentoxifillin kezelés (200 mg, intravénásan) előtt és után



11. kép: **A bal kéz PeriCam PSI készülékkel végzett LASCA vizsgálata** a pentoxifillin kezelés (200 mg iv) előtt (A) és utánna egy órával (B). A perfúzió arbitrary perfusion unit (PU) mértékegységben és színskála segítségével van kifejezve. A magasabb szám és sárga-piros szín a jó áramlásra utal.

MEGBESZÉLÉS

A funkcionális vaszkuláris betegségek, mint a Raynaud-jelenség, akrocianózis, eritromelalgia, az érintettség súlyossági fokától függően, az egyénnek, a családnak is terhet jelenthetnek.

A kórképek közül leggyakrabban a Raynaud-jelenség fordul elő. A rekurráló, a kéz ill. láb ujjait érintő reverzibilis vazospazmusként jellemezhető jelenség szisztémás autoimmun kórképek bevezető tünete lehet, ezért ezen betegek követése immunológiai szempontból indokolt.

A nemzetközi irodalmat áttekintve kevés a gyermekkori Raynaud-szindrómát elemző átfogó tanulmány áll rendelkezésre.

Munkánk első részének a célja a klinikánkon gondozott betegek adatainak összehasonlítása volt a külföldi tanulmányok eredményeivel. Jelen elemzés a nemzetközi irodalomban publikált betegszámnál nagyobb számú beteganyagot ölelt át. Vizsgálatunk során nagyfokú hasonlóságot észleltünk. Betegeink jelentős része a primer RS csoportjába tartozott. Szekunder RS csoportba a betegek 23 %-a tartozott, mely kevesebbnek bizonyult a nemzetközi adatokkal összehasonlítva [Duffy és mtsai, 1989; Nigrovic és mtsai., 2003; Pavlov-Dolijanović és mtsai., 2006]. Betegeink klinikai tünetei az adoleszcens korban jelentkeztek. A felnőttek körében végzett retrospektív tanulmányok során a primer RJ korábbi életkorban jelentkezett, saját vizsgálatunk során azonban a két alcsoport prezentációs idejében nem tapasztaltunk különbséget [Suter és mtsai., 2005; Garner és mtsai., 2015]. A nemzetközi tanulmányokkal megegyezően a diagnózis felállításáig hosszú idő telt el [Piotto és mtsai., 2013], retrospektív vizsgálatunk során ez 2,1 évnek bizonyult. Tanulmányunk során is a kórképre jellegzetes női nemi túlsúlyt észleltük.

Egy korábbi, 900 felnőtt beteget felölelő tanulmány alapján a betegek szüleiben előforduló RJ fokozott hajlamot jelentett a kórkép kifejlődésére [Heidrich és mtsai.; 2008]. Betegeink első

fokú rokonaiban, a külföldi vizsgálatokhoz viszonyítva azonban gyakrabban fordult elő autoimmun betegség.

A kórképre jellegzetes színelváltozás elsősorban bifázisos volt, kevesebb beteg számolt be trifázisos bőrjelenségről. Tanulmányunk is igazolta, hogy a klinikai tünet alapján a primer és a szekunder csoport nem különíthető el [Nigrovic és mtsai., 2003]. A színelváltozás mellett jellegzetes panasz a fájdalom, és érzéketlenség jelentkezése volt, mely gyakrabban fordult elő szekunder RS betegekben.

A kórkép migrénnel való társulása jól ismert, hátterében a kisereket érintő szisztémás funkcionális betegséget feltételeznek [O'Keeffe és mtsai., 1992; Smyth és mtsai., 1999, Turan és mtsai., 2017]. Betegeink esetén is észlelhető volt a migrénes tünetek fokozott (29 %) előfordulása, mely szekunder RS esetén gyakoribb jelenség volt. Turan és mtsainak vizsgálatával ellentétben migrén tüneteit mutató betegeink esetében anémiát nem észleltünk. A társuló betegségek közül kiemelendő a krónikus betegségekhez gyakran társuló probléma, a szorongásos rendellenesség gyakori előfordulása, melyről ezidáig gyermekkori tanulmány nem számolt be.

A RF észlelésekor laboratóriumi és körömágy-kapillármikroszkópia (NFC) vizsgálat elvégzése szükséges. A vizsgálatok lehetővé teszik a kórkép klasszifikációja mellett a kötőszöveti betegség kialakulásának előrejelzését is.

Raynaud-jelenség észlelése esetén szűrő vizsgálatként ANA teszt elvégzése javasolt. A teszt specifitása alacsony, mert alacsony titerű ANA pozitivitás egészséges gyermekek 12.6 %-ban is észlelhető [Hilario és mtsai, 2004]. Cabral és mtsainak, illetve Deane és mtsainak tanulmánya alapján az ANA pozitív gyerekek 27 %-ban nem fejlődött ki krónikus gyulladásos kórkép a 7,5 éves nyomonkövetési periódus során. Betegeink 9%-ban észleltünk ANA pozitivitást, két betegnél a későbbiekben NDC diagnózisát állítottuk fel. Bár a serdülők panaszmentesek voltak, kivizsgálásuk során gasztroözofageális reflux illetve csökkent diffúziós kapacitás (DLco)

igazolódott. Betegeink esete is alátámasztja azon megfigyelést, hogy Raynaud-jelenség és ANA pozitivitás észlelése esetén is alapvető fontosságú ezen gyermekek nyomonkövetése CTD irányába.

Immunszerológiai vizsgálatok során az ANA mellett egyéb antitestek jelenlétét vizsgálták.

Felnőtt és gyermek RS populáció eredményeinek elemzése során is az antifoszfolipid (APL) antitestek és RJ összefüggését észlelték [Vayssairat és mtsai., 1998; Nigrovic és mtsai., 2003]. Az APL antitestek az endotheliumhoz kötődve, azok aktivációját idézik elő [Meroni és mtsai., 2000]. Gyermekkori RJ esetén az APL antitest gyakori, 36%-s előfordulását észlelték primer RS, 30%-s jelenlétét szekunder RS esetén [Nigrovic és mtsai., 2003]. Tanulmányunk során 6 betegnél észleltük az autoantitest pozitivitást, mely az irodalmi adatokkal ellentétben, súlyosabb klinikai tünetekkel, ulceráció kifejlődésével nem társult. A betegeknél fix livedo retikularis észleltünk.

Hossny és mtsai 45 RS beteg vizsgálata során 86%-ban észlelt ACA pozitivitást, mely az idősebb életkorral, magasabb We értékkel, emelkedett vérnyomás értékkel, illetve alacsonyabb testsúllyal mutatott összefüggést. ANA pozivitás gyakrabban fordult elő ezen betegeknél. Vizsgálatunk során 1 gyermeknél észleltünk ACA pozitivitást, a nyomonkövetés során egyéb autoimmun betegségre utaló eltérés nem alakult ki.

Nigrovic és mtsai a szekunder RS betegek 67 %-ban, primer RS betegek csupán 6 %-ban észlelt ENA pozitivitást. Betegeink csupán 2,6%-ban igazolódott ENA pozitivitás, két betegnél NDC diagnózisát állítottuk fel.

A régóta ismert és használt körömágy-kapillármikroszkópia (NFC) non-invazív diagnosztikai módszer a RF tüneteivel jelentkező betegek kivizsgálása során. A vizsgálat alkalmas a primer és szekunder RS differenciálása mellett szkleroderma-spektrum betegség kifejlődésének előjelzésére. A gondozott gyermekek nagy részénél normál, illetve non-specifikus eltérést észleltünk, szekunder Raynaud-szindrómás betegeink esetén jelentősen nagyobb arányban

szkleroderma-gyanús eltérés mutatkozott. A felnőttekhez hasonlóan, gyerekek körében is szkleroderma specifikus kapillármikroszkópos eltérések észlelésekor a későbbiekben CTD fokozott kifejlődését tapasztalták [Dolezalova és mtsai., 2003; Piotto és mtsai., 2013]. Pavlov-Dolijanovic 250 beteg körömágy-kapillármikroszkópos vizsgálati eredményeinek elemzése során a szkleroderma típusú kép és a későbbiekben kifejlődő szkleroderma spektrum kórképek között szoros összefüggést mutatott ki. Tanulmányuk során a szkleroderma-spektrum kórképek kifejlődését megelőzően 6 hónappal észlelhető volt a kórképre jellegzetes kapillármikroszkópos eltérés, hangsúlyozva ezzel a kórkép kivizsgálása során a kapillármikroszópia jelentőségét. A korán észlelhető kapillármikroszkópos eltérések miatt 6 havonta javasolt a képalkotó eljárás elvégzése [Pavlov-Dolijanović és mtsai., 2006; Cutolo és mtsai., 2007; Cutolo és mtsai., 2008]. Szekunder RS betegeknél - egyéb szervi érintettség kizárása céljából - szerv-specifikus vizsgálatok, mint kardiológiai vizsgálat, pulmonológiai tesztek, gasztroenterológiai kivizsgálás szükséges. Tünetmentes betegeink légzésfunkciós vizsgálata során csökkent diffúziós kapacitást észleltünk radiológiai eltérés nélkül, betegeink 2,7%-ban a gasztrointesztinális panaszok hátterében reflux igazolódott. Bár vizsgálatunk során szervi érintettség ritkán fordult elő, de hangsúlyozni kívánjuk a betegek kivizsgálásának szükségességét a korai diagnózis és idejekorán elkezdett hatásos terápia miatt.

A gyermekkori Raynaud-jelenség esetén jelenlegi ismereteink alapján nem tudjuk megjósolni a későbbiekben kifejlődő kötőszöveti betegség kockázatát. CTD kifejlődése szempontjából az autoantitest pozitivitás és a NFC eltérés a legfontosabb. A felnőttekben végzett vizsgálatok alapján autoantitest pozivitás és kapillármikroszkópos eltérés észlelése esetén a betegek 15-20 %-ban kötőszöveti betegség kialakulása várható [Gerbracht és mtsai., 1985; Wollersheim és mtsai., 1989; Czirják és mtsai., 2005; Hirschl és mtsai., 2006], melyet a gyerekeknél végzett tanulmányok is megerősítettek [Duffy és mtsai., 1989; Hilario és mtsai., 2004; Falcini és mtsai., 2015]. Míg Pavlov-Dolijanovic 250 gyermeket felölelő prospektív vizsgálata során 2,4 évvel a

kezdeti RF jelentkezését követően a betegek 23,6 %-ban, addig Nigrovic retrospektív elemzése során 8%-ban észlelték CTD kifejlődését. Elsősorban Nem-Differenciált Kollagenózis ill. szkleroderma spektum betegség jelentkezett, ritkábban SLE ill. RA fejlődött ki.

Tekintettel a betegség késői, serdülőkori jelentkezésére, és a 18 éves korban felnőttgyógyászati irányba történő tranzicióra, tanulmányunk során nem volt lehetőségünk hosszabb nyomonkövetésre. Két betegnél észleltük NDC kifejlődését, egyéb szisztémás autoimmun betegség nem igazolódott.

Munkánk második részének a célja a kórkép patomehanizmusának vizsgálata volt funkcionális vaszkuláris teszt és vazoaktív szenzoros neuropeptid szint meghatározással.

A RS patofiziológiája nem teljesen ismert, a vazokonstriktor és vazodilatatív folyamatok egyensúlyi zavara észlelhető. Primer RS esetében elsősorban a mikrocirkuláció funkcionális elváltozása mutatható ki, szekunder RS esetében azonban szerkezeti eltérés is észlelhető.

A funkcionális módszerek közül korábban invazív, napjainkban a Doppler elven működő LDF vizsgálat terjedt el. A mikrovaszkuláris betegség korai felismerésében a szöveti perfúzió károsodásának detektálása alapvető fontosságú. Korábbi tanulmányok is kimutatták, hogy a mikrocirkulációs változások korábban kimutathatóak a kapillármikroszkópos eltérésekhez képest, így korai prognosztikai markerek lehetnek [Binaghi és mtsai., 1992; Murray és mtsai., 1999; Correa és mtsai., 2010]. A LDF egy értékes non-invazív vizsgálati eljárás a perifériás vaszkuláris betegségek diagnosztikájában és a nyomonkövetése során is. Elterjedten alkalmazzák kötőszöveti betegségek, diabéteszes mikroangiopátia, ateroszklerózis, égést követő sebgyógyulás esetében is [DelBianco és mtsai., 2001; Skrha és mtsai., 2001; Jaskille és mtsai., 2010; Pauling és mtsai., 2015; Maga és mtsai., 2016].

RS esetében a bőr mikrocirkulációjának vizsgálatára számos módszert dolgoztak ki. Míg az alapáramlási paramétereket különböző exogén és endogén tényezők befolyásolják, a

provokációs tesztek (nyomás, hideg, meleg provokáció, kémiai stimuláció) eredményei megbízhatóan összehasonlíthatóak [Binaghi és mtsai., 1992; DelBianco és mtsai, 2001; Hu és mtsai, 2012; Høyer és mtsai., 2013; Høyer és mtsai., 2014]. A hő-indukálta vizsgálat bizonyult a legérzékenyebbnek a kórkép súlyosságának megítélése, progressziójának előjelzése szempontjából is [Boignard és mtsai., 2005; Blaise és mtsai., 2014]. A hő-indukálta lokális hiperémia két mehanizmuson alapul: a kezdeti perfúzió fokozódás a a szenzoros idegsejtek által mediált, a hosszantartó plató fázisban elsősorban az endotéliális faktoroknak, mint nitrogén-oxid (NO)-nak van szerepe [Minson és mtsai., 2001; Johnson és mtsai., 2010, 2014]. A felnőttek körében végzett funkcionális vizsgálatok során a kezdeti neurogén vazodilatátor választ a betegség nem befolyásolta [Boignard és mtsai., 2005; Roustit és mtsai., 2008].

Tanulmányunk az első vizsgálat primer gyermek RS populációban, mely a hő-indukálta vaszkuláris változást vizsgálta a klinikai tünetek illetve súlyosságuk függvényében.

A felnőtt RF betegek eredményeihez hasonlóan a szimptómás RS csoport kiindulási áramlási paraméterei szignifikánsan csökkentek voltak. [Greenstein és mtsai., 1995; Roustit és mtsai., 2008]. A Raynaud alcsoportok közötti különbség a klinikai tünetek jelenléte mellett részben azzal is magyarázható, hogy a tünetmentes RS serdülők nagyobb súlyúak voltak és zsírszázaléka magasabb volt. A BMI-nek jól ismert hatása van a testhőmérsékletre és perfúzióra [Bemelmans és mtsai., 2012]. Obes gyermekekben végzett vizsgálatok során fokozott bőr áramlást észleltek [Chin és mtsai., 2009; Schlager és mtsai., 2011]. Felnőtt RS betegekben is kimutatták a BMI-nek a bőr hőmérsékletére és keringésére kifejtett hatását [Giurgea és mtsai., 2015].

Vizsgálatunk során a melegítésre adott válasz kinetikája különbözött RS betegeinkben az egészségesekhez viszonyítva. Hangsúlyozni kell, hogy a hő-indukálta válasz alapján a tünetmentes és a vizsgálat során is tüneteket mutató RS betegeink elkülöníthetőek. A szimptómás betegek esetén a hő kiváltotta maximális perfúzió értéke szignifikánsan kisebb volt

és a vazodilatatív válasz ideje elhúzódott volt a tünetmentes betegekhez viszonyítva. Ezen észrevételünk a felnőttek körében végzett tanulmányok eredményétől különbözik [Boignard és mtsai., 2005]. A hő-indukálta százalékos perfúzióemelkedés ill. az AUC értéke nem várt módon szignifikásan magasabbnak bizonyult a szimptómás csoportban az egészséges kontroll csoporthoz képest. Vizsgálati eredményünk a mikrovaszkulatúra rezerv kapacitására enged következtetni. Az aszimptómás RS és az egészséges kontroll csoport maximális perfúziós értékeiben és a százalékos emelkedés értékében szignifikáns különbség nem mutatkozott. A maximális áramlás eléréséig eltelt latenciaidő szignifikánsan hosszabb volt a szimptómás csoportban.

A keringési paraméterek közül a legérzékenyebbnek a latencia ideje minősült, mely alapján a három vizsgálati csoport elkülöníthető volt.

Míg a felnőttekben végzett hő-indukálta provokációs vizsgálatok alapján elsősorban a primer és a szekunder RS különíthető el [Boignard és mtsai., 2005], vizsgálatunkkal elsőként alkalmaztuk a Laser Doppler flowmetriát a klinikai tünetek súlyosságának megítélése céljából primer RS csoportban.

A közel 150 éve felismert Raynaud-jelenség patomehanizmusa a mai napig nem pontosan tisztázott.

A technika és a tudományos módszerek rohamos fejlődése azonban lehetőséget nyújt számunkra, hogy a fejlődés molekuláris szinten történő pontosabb megértése új felismerésekhez vezessen a rendellenesség kialakulásának mehanizmusáról, s ezen keresztül új terápiás lehetőségek bevezetését teszi lehetővé.

Az akrális területek véráramlásában a nutricionális áramlás mellett az arterio-venozus anasztomózis (AVA) játszik szerepet. Több tanulmány igazolta, hogy RS betegeknél termoneutrális hőmérsékleten is alacsonyabb áramlás detektálható egészségesekhez viszonyítva, mely különbség hideg hőmérséklet hatására fokozódik [Coffman és mtsai,,1971;

Kristensen és mtsai., 1983; Engelhart és mtsai., 1986; Greenstein és mtsai., 1995; Cooke és mtsai.; 1997]. Termoneutrális hőmérsékleten csökkent áramlás az AVA területeken volt kimutatható, hideg hatására azonban a nutricionális áramlás is csökkent, mely legmarkánsabb mértékben SSc betegekben volt észlelhető [Coffman és mtsai., 1971].

A RF multifaktoriális patomehanizmusában mind vaszkuláris, mind neuronális abnormalitások állnak.

A vaszkuláris tényezők közül kiemelendő az endotélium szerepe. Az endotélium, barrier szerepén túlmenően, a keringés szabályozásában résztvevő kémia anyagok termelése és felszabadítása által vesz részt a keringés szabályozásában. Mind az endotélium-dependens, mind az independens vazodilatáció csökkent mértékét mutatták ki primer Raynaud-szindrómás és szklerodermás betegekben [Herrick, 2005; Gunawardena és mtsai, 2007; Rossi és mtsai, 2008]. Kérdéses azonban, hogy milyen mértékben az endotélium által termelt vazodilatátoroknak, mint a nitrogén oxid (NO), a prostaciclin csökkent produkciója vagy azok nem megfelelő hatása felel a károsult dilatációért [Cotton és mtsai., 1999; Blaise és mtsai., 2009; Wigley, 2009; Johnson és mtsai., 2010].

Számos tanulmány igazolta a vazokonstriktor molekulák, mint endotelin-1 ill. angiotenzin II fokozott produkcióját primer és szekunder RS esetén is, de a patogenezisben betöltött szerepe elsősorban SSs betegekben bizonyított [Zamora és mtsai., 1990; Vancheeswaran és mtsai., 1994; Herrick, 2005]. Bár korábbi tanulmányok az endotelin szerepét megkérdőjelezik [Biernacka-Zielinska és mtsai., 2005], egy későbbi elemzésben Raynaud-szindrómás gyermekekben mért emelkedett szérum endotelin-1, E-szelektin szint és a mikroangiopátia között szoros összefüggést mutattak ki [Latuskiewicz-Potemska és mtsai., 2016].

A neuronális okok vizsgálata során számos neurotranszmitter illetve receptorainak szerepét ismerték fel. A perifériás ér fokozott szimpatikus aktivitását már korábbi tanulmányok során is kimutatták [Fagius és mtsai., 1985; Freedman és mtsai., 1994]. A fokozott szimpatikus aktivitás

hátterében részben a simaizomsejtekben megnövekedett α2-adrenerg receptor szenzitivitás és denzitás áll [Edwards és mtsai., 1987; Freedman és mtsai,, 1995; Cooke és mtsai., 1997; Flavahan és mtsai., 2000]. Ismertek irodalmi adatok, melyek szerint hideg hatására a Golgi apparátusból az α2C-adrenerg receptor transzlokalizáció is észlelhető, magyarázva a hideghatásra bekövetkezett fokozott vasoconstrikciós választ [Chotani és mtsai., 2000; Bailey és mtsai., 2004].

Ismertek irodalmi adatok a tyrosin kináz vazospasztikus kórképekben betöltött szerepéről [Shiba és mtsai., 2012; Sardana és mtsai., 2015; Shah és mtsai., 2015]. Furspan és mtsai 2004-ben bizonyította azt is, hogy mind a primer, mind a szekunder RS betegekben fokozott a tyrosin kináz aktivitás és tyrosin foszforiláció.

Hangsúlyozandó azonban, hogy a vazokonstriktor molekulákon túl a vazodilatációért felelős molekulák szintje is különbözik Raynaud-szindrómás betegekben egészségesekhez viszonyítva. A vazodilatatív neuropeptidek közül a calcitonin gene-related peptid (CGRP) csökkent szintje mutatható ki primer RS és SSc betegekben egyaránt [Bunker és mtsai., 1990; Terenghi és mtsai., 1991], egyéb vazodilatátorok, mint substance P, neurokinin A, vazoaktív intesztinalis peptid szerepe kevésbé ismert. A CGRP-tartalmazó idegvégződéseknek a hő indukálta vazodilatáció kezdeti szakaszában van szerepe. SSc betegek esetében a melegítés hatására elhúzódó vazodilatáció volt észlelhető, mely részben a csökkent CGRP denzitással magyarázható [Wang és mtsai, 2005].

Jelen tanulmányunk során két szenzoros neuropeptid, a szomatosztatin és a PACAP-38 vizsgálatára nyílt lehetőség. Munkánk célja, egy ezidáig kevéssé vizsgált terület, a fenti neuropeptidek és RS kapcsolatának elemzése volt.

Az 1968-ban felfedezett szomatosztatin, egy peptid természetű anyag, mely mind a központi, mind a perifériás szövetekben megtalálható. Számos hatása mellett a központi idegrendszerben neurotranszmitterként működik, a perifériás idegrendszerben a szenzoros és a vegetatív rostok

is tartalmaznak szomatosztatint. Raynaud-szindrómában szerepét ezidáig egy tanulmány vizsgálta. Kaada és mtsai 16 RS betegnél hideg hatására csökkent szérum szomatoszatin szintet észleltek.

A VIP-secretin-glukagon peptidcsaládhoz tartozó hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (angol nevének rövidítéséből PACAP) neuropeptidet 1989-ben izoláltak birka hipotalamuszból [Miyata és mtsai., 1989]. Két biológiailag aktív formája van, a PACAP-27 és PACAP-38. Megtalálható a központi és környéki idegrendszerben, s jelentős szerepet játszik az idegrendszer fejlődésében is [Kambe és mtsai., 2012; Yan és mtsai., 2013].

A termoneutrális hőmérsékleten végzett vizsgálatunk során a neuropeptidek szérum koncentrációjában nem észleltünk különbséget az Raynaud-szindrómás és egészséges csoport között. Eredményünk arra enged következtetni, hogy elsősorban lokális tényezők játszanak szerepet a Raynaud-fenomén kialakításában.

Munkánk harmadik részének célja két non-invazív vizsgálati módszerrel a keringési zavar súlyosságának és a terápiára adott válasz hatékonyságának megállapítása volt egy akrocianózis miatt klinikánkon kezelt kislány esete kapcsán.

Esetünkkel a súlyos tünetekkel társult kórkép hátterében álló okok feltárására szeretnénk rávilágítani.

Gyermekekben a bőrnekrózissal jelentkező súlyos akrocianózis rika kórkép, elsősorban szisztémás autoimmun betegségek, mint SLE, SSc, infekció-indukálta hideg agglutinin betegségek (angol nevének rövidítéséből CAS) vagy drog-abuzus áll a hátterében [Sinha és mtsai., 2005; Heidrich és mtsai., 2010; Lauchli és mtsai., 2011; Coulombe és mtsai., 2015]. A CAS a szerzett hemolitikus anémiák 10-20 %-ért felelős. A klinikai tünetek kialakításában a vörösvértestek felszínén lévő I antigén ellen irányuló IgM típusú auto-antitestek vesznek részt.

Alacsony titerben egészségesekben is kimutathatóak, s jellemzően csak alacsony hőmérsékleten kapcsolódnak a vörösvérsejtekhez, agglutinációt, illetve komplement aktiváció révén hemolizist okozhatnak [Zilow és mtsai., 1994; Kirschfink és mtsai., 1994]. Az összecsapzódott vörösvértestek következtében a perifériás mikrovaszkulatúra elzáródása révén akrocianózis, súlyos esetben iszkémiás gangréna fejlődhet ki. Míg az idiopátiás és szekunder, malignus kórképekhez társuló forma az idősebb életkorban jelentkezik, posztinfekciózus formája gyermekkorra jellemző [Luzuriaga és mtsai., 2010; Karunarathne és mtsai., 2012; Swiecicki és mtsai., 2013].

A fertőzések kapcsán gyakran alakulnak ki agglutininek, azonban ezek titere és termális amplitúdója ritkán patologiás értékű, így a fertőzéses betegségekhez CAS kialakulása ritkán társul. Mycoplasma pneumonia fertőzés esetében a gyógyulási szakban, a fertőzést követő 2 hétben megjelenő antitestek miatt leggyakrabban akut hemolizis alakul ki. Bár az antitest titer 3-4 hónapig is perzisztálhat, a hemolizis azonban általában önmagát korlátozó folyamat, 1-3 héten belül megszűnik [Hamblin, 2000; McNicholl és mtsai., 2000; Sinha és mtsai., 2005.] Az akrális területen kialakuló akrocianózis hátterében a vörösvérsejtek összecsapzódása áll, ulceráció és nekrózis ritkán fejlődik ki [McNicholl és mtsai., 2000; Sinha és mtsai., 2005; Karunarathne és mtsai, 2012]

A kilenc éves betegünknél szisztémás autoimmun betegségre utaló klinikai tünetet és laboratóriumi eltérést nem észleltünk. A részletes anamnézis segítségével a gyógyszer-indukálta akrocianózis kizárható volt. A súlyos, nekrózissal társult vaszkuláris eltérés hátterében infekció kiváltotta hideg agglutinin betegség állt, melyet a légúti tünetek, a Mycoplasma pneumoniae szerológiai teszt pozitivitás, illetve a szobahőmérsékleten is detektálható hideg-agglutinin jelenléte is támogatott. Esettanulmányunk elsőként mutatta be a Mycoplasma fertőzés kiváltotta hideg-agglutinin szindróma okozta súlyos formájú

akrocianózist. Esetünkkel a súlyos keringési zavar hátterében álló okok felismerésének fontosságát szeretnénk hangsúlyozni.

Betegünk bőr perfúzióját két non-invazív eljárással vizsgáltuk, az LDF és LASCA módszerrel. A hő-indukálta Doppler vizsgálattal kifejezetten csökkent kiindulási áramlást detektáltunk egészséges kontrollhoz viszonyítva, melegítés hatására elhúzódó vazodilatáció volt észlelhető. A mikrocirkuláció vizsgálatának új, non-invazív, a klinikai rutin vizsgálatok között azonban még nem elterjedt módszere, a LASCA [Sandker és mtsai., 2014; Krezdorn és mtsai., 2016; Ruaro és mtsai., 2017]. A vizsgálat alkalmazása gyermekgyógyászati kórképekben ezidáig nem volt ismert. A technikával mind a csökkent akrális vérátáramlás, mind a vazodilatációs terápiára adott jó terápiás válasz kimutatható volt. Eredményienk alapján az eljárások jelentőségét hangsúlyozzuk a súlyos keringési tüneteket mutató betegek kivizsgálása során.

EREDMÉNYEINK ÖSSZEFOGLALÁSA, KÖVETKEZTETÉSEK

A következőkben röviden összefoglalnám a fentiekben részletesen kifejtett megállapításainkat.

1. Tapasztalataink alapján, a RF tüneteivel jelentkező gyermekek klinikai kivizsgálását illetően, a következő szempontokat emelném ki:

- Anamnézis: Részletes családi anamnézis felállítása szükséges az etiológiai tényezők (öröklődő betegség – családi halmozódás) tisztázásához. A klinikai tünetek pontos ismerete alapvető jelentőségű, azonban a kórkép klinikai tüneteken alapuló klasszifikációja nem lehetséges.
- A betegség klasszifikációja és a kórkép prognózisa szempontjából ANA teszt vizsgálat és körömágy–kapillármikroszkópia elvégzése alapvető fontosságú.
- Feladatunk az ártalmatlannak tűnő Raynaud-jelenség felismerése, hiszen a tünettan szisztémás autoimmun betegség bevezető tünete lehet. Kiegészítő vizsgálatok (kardiológiai, pulmonológiai, gasztroenterológiai, pszichológia, stb.) lehetnek szükségesek a társuló szervi érintettségek kimutatásához.

2. A tudásunk szerint tanulmányunk az első vizsgálat gyermekkori Raynaud-szindrómás populációban, mely a megváltozott hő-indukálta vazodilatációs választ mutatott ki egy szenzítív, non-invazív módszer alkalmazásával.

3. A mikrocirkulációs változások korábban fejlődnek ki a kapillármikroszkópiás eltérésekhez képest, így a hő hatásra jelentkező perfúziós eltérések korai prognoszikai markerek lehetnek, de további vizsgálatok szükségesek ennek megerősítésére.

4. Az akrocianózis észlelésekor mielőbb kóroki diagnózis felállítása szükséges az eredményes terápia alkalmazása érdekében.

IRODALOMJEGYZÉK

Al-Awami, Schillinger M, Minar E. Vasospasm of the scrotum--a manifestation of Raynaud's phenomenon? Vasa. 2004;33(2):87-88.

Anderson JE, Held N, Wright K. Raynaud's phenomenon of the nipple: a treatable cause of painful breastfeeding. Pediatrics. 2004;113(4):e360-364.

Bailey SR, Eid AH, Mitra S, Flavahan S, Flavahan N. A. Rho kinase mediates cold-induced constriction of cutaneous arteries: role of α2C-adrenoceptor translocation. Circ. Res. 2004; 94: 1367–1374.

Bellando-Randone S, Matucci-Cerinic M. From Raynaud's Phenomenon to Very Early Diagnosis of Systemic Sclerosis- The VEDOSS approach. Curr Rheumatol Rev. 2013;9(4):245-248.

Bemelmans RHH, van der Graaf Y, Nathoe HM, Wassink AMJ, Vernooij JWP, Spiering W, et al. Increased visceral adipose tissue is associated with increased resting heart rate in patients with manifest vascular disease. Obes Silver Spring Md. 2012;20:834–841.

Bertolazzi C, Cutolo M, Smith V, Gutierrez M. State of the art on nailfold capillaroscopy in dermatomyositis and polymyositis. Semin Arthritis Rheum. 2017;47(3):432-444.

Biernacka-Zielinska M, Brozik H, Smolewska E, Mikinka M, Jakubowska T, Stanczyk J. [Diagnostic value of thermography and endothelin concentration in serum of children with Raynaud’s Syndrome]. Med Wieku Rozwoj. 2005;9:213–222.

Binaghi F, Cannas F, Mathieu A, Pitzus F. Correlations among capillaroscopic abnormalities, digital flow and immunologic findings in patients with isolated Raynaud’s phenomenon. Can laser Doppler flowmetry help identify a secondary Raynaud phenomenon? Int Angiol J Int Union Angiol. 1992;11:186–194.

Blaise S, Maas R, Trocme C, Kom GD, Roustit M, Carpentier PH, Cracowski JL. Correlation of biomarkers of endothelium dysfunction and matrix remodeling in patients with systemic sclerosis. J Rheumatol. 2009;36(5):984-988.

Blaise S, Roustit M, Carpentier P, Seinturier C, Imbert B,The digital thermal hyperemia pattern is associated with the onset of digital ulcerations in systemic sclerosis during 3 years of follow-up. Microvasc Res. 2014;94:119-122.

Boignard A, Salvat-Melis M, Carpentier PH, Minson CT, Grange L, Duc C, et al. Local hyperhemia to heating is impaired in secondary Raynaud's phenomenon. Arthritis Res Ther. 2005;7:R1103.

Bridges MJ, Kelly CA. Raynaud's phenomenon affecting the tongue of a patient with scleroderma. Ann Rheum Dis. 2002;61(5):472.

Brown KM, Middaugh SJ, Haythornthwaite JA, Bielory L. The effects of stress, anxiety, and outdoor temperature on the frequency and severity of Raynaud's attacks: the Raynaud's Treatment Study. J Behav Med. 2001;24(2):137-153.

Bundhun PK, Kumari A, Huang F. Differences in clinical features observed between childhood-onset versus adult-onset systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. Medicine (Baltimore). 2017;96(37):e8086.

Bunker CB, Terenghi G, Springall DR, Polak JM, Dowd PM. Deficiency of calcitonin gene-related peptide in Raynaud's phenomenon. Lancet Lond Engl. 1990;336:1530–1533.

Cabral DA, Petty RE, Fung M, Malleson PN. Persistent antinuclear antibodies in children without identifiable inflammatory rheumatic or autoimmune disease. Pediatrics. 1992;89(3):441-444.

Cannas F, Binaghi F. Nailfold capillaroscopy and laser Doppler flowmetry during standardised cold challenge to evaluate capillary pattern and digital flow in idiopathic acrocyanosis. Panminerva Med. 2002; 44:123–127.

Chin LC, Huang TY, Yu CL, Wu CH, Hsu CC, Yu HS. Increased cutaneous blood flow but impaired post-ischemic response of nutritional flow in obese children. Atherosclerosis. 1999;146:179–185.

Chotani MA, Flavahan S, Mitra S, Daunt D, Flavahan N. A. Silent α(2c)-adrenergic receptors enable cold-induced vasoconstriction in cutaneous arteries. Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2000; 278: H1075–1083.

Coffman JD, Cohen AS. Total and capillary fingertip blood flow in Raynaud's phenomenon. N Engl J Med. 1971;285:259–263.

Cooke JP, Creager SJ, Scales KM, Ren C, Tsapatsaris NP, Beetham Jr WP, Creager MA. Role of digital artery adrenoceptors in Raynaud's disease. Vasc Med. 1997;2:1–7.

Cook-Norris RH, Tollefson MM, Cruz-Inigo AE, Sandroni P, Davis MD, Davis DM. Pediatric erythromelalgia: a retrospective review of 32 cases evaluated at Mayo Clinic over a 37-year period. J Am Acad Dermatol. 2012;66(3):416-423.

Correa MJ, Andrade LE, Kayser C. Comparison of laser Doppler imaging, fingertip lacticemy test, and nailfold capillaroscopy for assessment of digital microcirculation in systemic sclerosis. Arthritis Res Ther. 2010;12:R157.

Cotton SA, Herrick AL, Jayson MI, Freemont AJ. Endothelial expression of nitric oxide synthases and nitrotyrosine in systemic sclerosis skin. J. Pathol. 1999;189: 273–278.

Coulombe J, Powell J, Hatami A, McCuaig C, Renet S, Marcoux D. Diseases of abnormal sensitivity to cold in children on psychostimulant drugs. J Cutan Med Surg. 2015;19(2):121-124.

Creager MA, Dzau VJ. Vascular diseases of the extremities. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. Harrison's Prins of Internal Medicine. 16th ed. New York: McGraw-Hill; 2005; p.1490.

Crouzet C, Nguyen JQ, Ponticorvo A, Bernal NP, Durkin AJ, Choi B. Acute discrimination between superficial-partial and deep-partial thickness burns in a preclinical model with laser speckle imaging. Burns. 2015;41(5):1058-1063.

Cutolo M, Sulli A, Secchi ME, Olivieri M, Pizzorni C. The contribution of capillaroscopy to the differential diagnosis of connective autoimmune diseases. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2007;21(6):1093-1108.

Cutolo M, Pizzorni C, Secchi ME, Sulli A. Capillaroscopy. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2008;22(6):1093-108.

Czirják L, Kiss CG, Lövei C, Sütő G, Varjú C, Füzesi Z, Illés T, Nagy Z. Survey of Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis based on a representative study of 10,000 south-Transdanubian Hungarian inhabitants. Clin Exp Rheumatol. 2005;23(6):801-808.

Czirják L, Matucci-Cerinic M. Beyond Raynaud's phenomenon hides very early systemic sclerosis: the assessment of organ involvement is always mandatory. Rheumatology (Oxford). 2011;50(2):250-251.

Czirják László, Nagy Zoltán: A Raynaud-szindróma jelentősége a kötőszöveti megbetegedések korai diagnosztikájában. Magyar Immunol. 2003;2 (1):21-25.

Das S, Maiti A. Acrocyanosis: an overview. Indian J Dermatol. 2013;58(6):417-420.

Davis MD, Sandroni P, Rooke TW, Low PA. Erythromelalgia: vasculopathy, neuropathy, or both? A prospective study of vascular and neurophysiologic studies in erythromelalgia. Arch Dermatol. 2003;139(10):1337-1343.

Davis MD, Sandroni P. Lidocaine patch for pain of erythromelalgia: follow-up of 34 patients. Arch Dermatol. 2005;141(10):1320-1321.

Deane PM, Liard G, Siegel DM, Baum J. The outcome of children referred to a pediatric rheumatology clinic with a positive antinuclear antibody test but without an autoimmune disease. Pediatrics. 1995;95(6):892-895.

DelBianco E, Magini B, Muscarella G, Cappugi P, Lotti T.“Raynaud’s phenomenon (primary or secondary to systemic sclerosis). The usefulness of laser-doppler flowmetry in the diagnosis. Int Angiol. 2001;20(4):307-313.

Denton CP. Systemic sclerosis: from pathogenesis to targeted therapy. Clin Exp Rheumatol. 2015;33(4 Suppl 92): S3-7.

Di Lorenzo N, Sica GS, Sileri P, Gaspari AL. Thoracoscopic sympathectomy for vasospastic diseases. JSLS. 1998;2(3):249-253.

Di Lorenzo N, Sica GS, Sileri P, Gaspari AL. Thoracoscopic sympathectomy for vasospastic diagnosis,”International Angiology, 2001;4:307–313.

Dolezalova P, Young SP, Bacon PA, Southwood TR. Nailfold capillary microscopy in healthy children and in childhood rheumatic diseases: a prospective single blind observational study. Ann Rheum Dis. 2003;62(5):444-9.

Duffy CM, Laxer RM, Lee P, Ramsay C, Fritzler M, Silverman ED. Raynaud syndrome in childhood. J Pediatr. 1989;114(1):73-78.

Dunn A.K., Bolay H, Moskowitz M.A, Boas D.A. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. J. Cereb. Blood Flow Metab.2001;21:195–201.

Edwards JM, Phinney ES, Taylor Jr LM, Keenan EJ,Porter JM. Alpha 2-adrenergic receptor levels in obstructive and spastic Raynaud’s syndrome. J Vasc Surg. 1987;5:38–45.

Engelhart M, Kristensen JK. Raynaud’s phenomenon: blood supply to fi ngers during indirect cooling, evaluated by laser Doppler fl owmetry. Clin Physiol.1986;6:481–488.

Engle WA, Boyle DW. Delivery room management and transitional care. Osborn LM, DeWitt TG, First LR, Zenel JA, editors. Pediatrics. Philadelphia: Elsevier Mosby. 2005;pp. 1250–1261.

Eriksson S, Nilsson J, Sturesson C. Non-invasive imaging of microcirculation: a technology review. Med Devices (Auckl). 2014;7:445-52.

Fagius J, Blumberg H. Sympathetic outflow to the hand in patients with Raynaud's phenomenon. Cardiovasc Res. 1985;19:249–253.

Falcini F, Rigante D, Candelli M, Martini G, Corona F, Petaccia A, La Torre F,Raffaele CG, Matucci Cerinic M. Anti-nuclear antibodies as predictor of outcome in a multi-center cohort of Italian children and adolescents with Raynaud's phenomenon. Clin Rheumatol. 2015;34(1):167-169.

Fett N. Scleroderma: nomenclature, etiology, pathogenesis, prognosis, and treatments:facts and controversies. Clin Dermatol. 2013;31(4):432-437.

Fitzgerald O, Hess EV, O'Connor GT, Spencer-Green G. Prospective study of the evolution of Raynaud's phenomenon. Am J Med. 1988;84(4):718-726.

Flavahan NA, Flavahan S, Liu Q, Wu S, Tidmore W, Weiner CM, Spence RJ, Wigley FM. Increased alpha2-adrenergic constriction of isolated arterioles in diffuse scleroderma. Arthritis Rheum. 2000;43(8):1886–1890.

Flavahan NA. A vascular mechanistic approach to understanding Raynaud phenomenon. Nat Rev Rheumatol. 2015;11:146–158.

Fonseca C, Abraham D, Ponticos M. Neuronal regulators and vascular dysfunction in Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. Curr Vasc Pharmacol. 2009;7:34–39.

Freedman RR, Moten M. Venodilation in Raynaud's disease. Lancet. 1994;343:678–679.

Freedman RR, Baer RP, Mayes MD. Blockade of vasospastic attacks by alpha 2-adrenergic but not alpha 1- adrenergic antagonists in idiopathic Raynaud's disease. Circulation. 1995;92:1448–1451.

Freedman Rf, Girgis R, Mayes M. Endothelial and adrenerg dysfunction in Raynaud's phenmen and scleroderm. J Rheumatol, 1999;26:2386-2389.

Furspan PB, Chatterjee S, Freedman R. Increased tyrosine phosphorylation mediates the cooling-induced contraction and increased vascular reactivity of Raynaud's disease. Arthritis Rheum. 2004;50:1578–1585.

Gaillard-Bigot F, Roustit M, Blaise S, Gabin M, Cracowski C, Seinturier C, et al. Abnormal amplitude and kinetics of digital postocclusive reactive hyperemia in systemic sclerosis. Microvasc Res. 2014;94:90–95.

Garner R, Kumari R, Lanyon P, Doherty M, Zhang W.: Prevalence, risk factors and associations of primary Raynaud's phenomenon:systematic review and meta-analysis of observational studies. BMJ Open. 2015;16:5(3).

Gerbracht DD, Steen VD, Ziegler GL, Medsger TA Jr, Rodnan GP. Evolution of primary Raynaud's phenomenon (Raynaud's disease) to connective tissue disease. Arthritis Rheum. 1985;28(1):87-92.

Giurgea G-A, Mlekusch W, Charwat-Resl S, Mueller M, Hammer A, Gschwandtner ME, et al. Relationship of Age and Body Mass Index to Skin Temperature and Skin Perfusion in Primary Raynaud's Phenomenon. Arthritis Rheumatol. 2015;67:238–242.

Greenstein D, Gupta NK, Martin P, Walker DR, Kester RC. Impaired thermoregulation in Raynaud's phenomenon. Angiology. 1995;46:603–611.

Gunawardena H, Harris ND, Carmichael C, McHugh NJ. Maximum blood flow and microvascular regulatory responses in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2007;46: 1079–1082.

Hamblin T. Management of cold agglutination syndrome. Transfus Sci. 2000;22(1-2):121-124.

Hattori N, Ishii N, Ariizumi H, et al. Improvement of the thermal amplitude after rituximab treatment for cold agglutinin disease with Waldenström's macroglobulinemia. Ann Hematol. 2010;89(1):103-104.

Heidrich H, Helmis J, Fahrig C. Clinical characteristics of Pimary, Secondary and Suspected Secondary Raynaud's Syndrome and Diagnostic Transition in the Long-Term Follow-Up. VASA 2008;S73:3-25.

Heidrich H. Functional vascular diseases: Raynaud's syndrome, acrocyanosis and erythromelalgia. Vasa. 2010;39(1):33-41.

Herrick AL, Jayson MI. Primary Raynaud's phenomenon in early childhood. Br J Rheumatol. 1991;30(3):223–225.

Herrick AL,Matucci Cerenic M. The emerging problem of oxidative stress nad the role of antioxidant in systemic sclerosis. Clin Exp Rheumatol. 2001;19,4-8.

Herrick AL. Pathogenesis of Raynauds phenomen. Rheumatology (Oxford). 2005;44(5):587-596.

Herrick AL.The pathogenesis, diagnosis and treatment of Raynaud phenomenon. Nat Rev Rheumatol. 2012;8(8):469-479.

Herrick AL. Fatone MC, Perosa F.: Raynaud's phenomenon: from molecular pathogenesis to therapy. Autoimmun Rev. 2014;13(6):655-667.

Herrick AL. Recent advances in the pathogenesis and management of Raynaud's phenomenon and digital ulcers. Curr Opin Rheumatol. 2016;28(6):577-585.

Herrick AL. Evidence-based management of Raynaud's phenomenon. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2017;9(12):317-329.

Herrick AL.Therapeutic implications from the pathogenesis of Raynaud's phenomenon. Expert Rev Clin Immunol. 2017;13(7):723-735.

Hilário MO, Len CA, Roja SC, Terreri MT, Almeida G, Andrade LE. Frequency of antinuclear antibodies in healthy children and adolescents. Clin Pediatr (Phila). 2004;43(7):637-42.

Hirschl M, Hirschl K, Lenz M, Katzenschlager R, Hutter HP, Kundi M. Transition from primary Raynaud's phenomenon to secondary Raynaud's phenomenon identified by diagnosis

of an associated disease: results of ten years of prospective surveillance. Arthritis Rheum. 2006;54(6):1974-1981.

Hossny E, Hady HA, Mabrouk R. Anti-centromere antibodies as a marker of Raynaud's phenomenon in pediatric rheumatologic diseases. Pediatr Allergy Immunol. 2000;11(4):250-255.

Høyer C, Sandermann J, Paludan JPD, Pavar S, Petersen LJ. Diagnostic accuracy of laser Doppler flowmetry versus strain gauge plethysmography for segmental pressure measurement. J Vasc Surg. 2013;58:1563–1570.

Høyer C, Paludan JPD, Pavar S, Biurrun Manresa JA, Petersen LJ. Reliability of Laser Doppler Flowmetry Curve Reading for Measurement of Toe and Ankle Pressures: Intra- and Inter-observer Variation. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2014;47:311–318.

Hu C-L, Lin Z-S, Chen Y-Y, Lin Y-H, Lai M-F, Li M-L. Application of the laser Doppler flowmeter for measurement of blood pressure and functional parameters of microcirculation. Biomed Mater Eng. 2012;22:351–359.

Hughes M, Herrick AL. Raynaud's phenomenon. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2016;30(1):112-132.

Jaskille AD, Ramella-Roman JC, Shupp JW, Jordan MH, Jeng JC. Critical review of burn depth assessment techniques: part II. Review of laser doppler technology. J Burn Care Res Off Publ Am Burn Assoc. 2010;31:151–157.

Johnson JM, Kellogg D L. Local thermal control of the human cutaneous circulation. J. Appl. Physiol. 2010;109:1229–1238.

Johnson JM, Minson CT, Kellogg DL. Cutaneous vasodilator and vasoconstrictor mechanisms in temperature regulation. Compr Physiol. 2014;4:33–39.

Jones GT, Herrick AL, Woodham SE, Baildam EM, Macfarlane GJ, Silman AJ. Occurrence of Raynaud's phenomenon in children ages 12-15 years: prevalence and association with other common symptoms. Arthritis Rheum. 2003;48:3518–3521.

Kaada B, Lygren I. Lower plasma levels of some gastrointestinal peptides in Raynaud's disease. Influence of transcutaneous nerve stimulation. Gen Pharmacol. 1985;16(2):153-156.

Kakimura M. Comparative studies of the effects of alpha-tocopheryl nicotinate and the combination alpha-tocopheryl acetate and nicotinic acid. Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 1973;19(5):375-381.

Kallenberg CG. Early detection of connective tissue disease in patients with Raynaud's phenomenon. Rheum Dis Clin North Am. 1990;16(1):11-30.

Kambe Y, Miyata A. Role of mitochondrial activation in PACAP dependent neurite outgrowth. J. Mol. Neurosci. 2012;48:550-557.

Karunarathne S, Weerasinghe S, Govindapala D, Fernando H, Jayaratne B. Cold autoimmune haemolytic anaemia secondary to Epstein Barr virus infection presenting with peripheral gangrene; case report. Thromb J. 2012;10(1):4.

Kirschfink M, Knoblauch K, Roelcke D. Activation of complement by cold agglutinins. Infusionsther Transfusionsmed. 1994;21(6):405-409.

Kiyota N, Kunikata H, Shiga Y, Omodaka K, Nakazawa T. Relationship between laser speckle flowgraphy and optical coherence tomography angiography measurements of ocular microcirculation. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2017;255(8):1633-1642.

Klein-Weigel PF, Sunderkötter C, Sander O. Nailfold capillaroscopy microscopy - an interdisciplinary appraisal. Vasa. 2016;45(5):353-364.

Knopman Rf. Raynaud's Phenomenon of the Penis. J Urol, 2004;171:1630.

Koenig M, Dieude´ M, Sene´ cal JL. Predictive value of antinuclear autoantibodies: the lessons of the systemic sclerosis autoantibodies. Autoimmun Rev 2008;7:588-593.

Koenig M, Joyal F, Fritzler MJ, Roussin A, Abrahamowicz M, Boire G, et al. Autoantibodies and microvascular damage are independent predictive factors for the progression of Raynaud's phenomenon to systemic sclerosis: a twenty-year prospective study of 586 patients, with validation of proposed criteria for early systemic sclerosis. Arthritis Rheum. 2008;58:3902–3912.

Krezdorn N, Limbourg A, Paprottka FJ, Könneker, Ipaktchi R, Vogt PM. Assessing burn depth in tattooed burn lesions with LASCA Imaging. Ann Burns Fire Disasters. 2016;29(3):223-227.

Krishnan SG, Yesudian DP, Jayaraman M, Janaki VR, Raj BJ. Erythromelalgia responding to aspirin. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 1996;62(3):204-205.

Kristensen JK, Engelhart M, Nielsen T. Laser-Doppler measurement of digital blood flow regulation in normals and in patients with Raynaud's phenomenon. Acta Derm Venereol. 1983;63:43–47.

Kurklinsky AK, Miller VM, Rooke TW. Acrocyanosis: the Flying Dutchman. Vasc Med. 2011;16(4):288-301.

Lambova SN, Müller-Ladner U. The role of capillaroscopy in differentiation of primary and secondary Raynaud's phenomenon in rheumatic diseases: a review of the literature and two case reports. Rheumatol Int. 2009;29(11):1263-1271.

Lambova SN, Müller-Ladner U. The specificity of capillaroscopic pattern in connective autoimmune diseases. A comparison with microvascular changes in diseases of social importance: arterial hypertension and diabetes mellitus. Mod Rheumatol. 2009;19(6):600-605.

Latuskiewicz-Potemska J, Chmura-Skirlinska A, Gurbiel RJ, Smolewska E. Nailfold capillaroscopy assessment of microcirculation abnormalities and endothelial dysfunction in children with primary or secondary Raynaud syndrome. Clin Rheumatol. 2016;35:1993–2001.

Lauchli S, Widmer L, Lautenschlager S. Cold agglutinin disease-the importance of cutaneous signs. Dermatology. 2011; 202(4):356-358.

LeRoy EC, Medgser Ta Jr. Raynaud’s phenomen: a proposal for classification. Clin exp Rheumatol. 1992,10(5):485-488.

Levien TL. Advances in the treatment of Raynaud's phenomenon. Vasc Health Risk Manag. 2010;24(6):167-177.

Linnemann B, Erbe M. Raynaud's phenomenon and digital ischaemia--pharmacologic approach and alternative treatment options. Vasa. 2016;45(3):201-212.

Lloret Linares C, Ciangura C, Bouillot J-L, Coupaye M, Declèves X, Poitou C, et al. Validity of leg-to-leg bioelectrical impedance analysis to estimate body fat in obesity. Obes Surg. 2011;21:917–923.

Luzuriaga K, Sullivan JL. Infectious mononucleosis. N Engl J Med. 2010;362(21):1993-2000.

Maga P, Henry BM, Kmiotek EK, Gregorczyk-Maga I, Kaczmarczyk P, Tomaszewski KA, Niżankowski R. Postocclusive Hyperemia Measured with Laser Doppler Flowmetry and Transcutaneous Oxygen Tension in the Diagnosis of Primary Raynaud's Phenomenon: A Prospective, Controlled Study. Biomed Res Int. 2016;2016:9645705.

Maricq HR, Harper FE, Khan MM, Tan EM, LeRoy EC. Microvascular abnormalities as possible predictors of disease subsets in Raynaud's phenomenon and early connective tissue disease. Clin Exp Rheumatol 1983;1:195-205.

Martini G, Foeldvari I, Russo R és mtsai. Systemic sclerosis in childhood: clinical and immunologic features of 153 patients in an international database. Arthritis Rheum. 2006,54 (12):3971-3978.

Maverakis E, Patel F, Kronenberg DG, et al. International consensus criteria for the diagnosis of Raynaud's phenomenon. J Autoimmun. 2014;48-49:60-65.

Mayes M. Systemic sclerosis. In: Klippel J, ed. Primer on the rheumatic diseases. New York: Springer, 2008:343-362.

McNicholl FP. Clinical syndromes associated with cold agglutinins. Transfus Sci.2000;22(1-2):125-133.

Merlen JF. Paradoxes of acrocyanosis. Adv Microcirc. 1982;10:95–100.

Meroni PL, Raschi E, Camera M, Testoni C, Nicoletti F, Tincani A, Khamashta MA, Balestrieri G, Tremoli E, Hess DC. Endothelial activation by aPL: a potential pathogenetic mechanism for the clinical manifestations of the syndrome. J Autoimmun. 2000;15(2):237-40.

Minson CT, Berry LT, Joyner MJ. Nitric oxide and neurally mediated regulation of skin blood flow during local heating. J Appl Physiol Bethesda Md 1985. 2001;91:1619–1626.

Miyata A, Arimura A, Dahl RR, Minamino N, Uehara A, Jiang L, Culler MD, Coy DH. Isolation of a novel 38 residue-hypothalamic polypeptide which stimulates adenylate cyclase in pituitary cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1989;164:567-574.

Monticone G, Colonna L, Palermi G, Bono R, Puddu P. Quantitative nailfold capillary microscopy findings in patients with acrocyanosis compared with patients having systemic sclerosis and control subjects. J Am Acad Dermatol. 2000;42(5 Pt 1):787-90.

Mork C, Kalgaard OM, Kvernebo K. Erythromelalgia as a paraneoplastic syndrome in a patient with abdominal cancer.Acta Derm Venereol 1999;79:394.

Mork C, Kalgaard OM, Myrvang B, Kvernebo K. Erythromelalgia in a patient with AIDS. J Eur Acad Dermatol Venereol 2000;14:498 –500.

Murray AK, Moore TL, Manning JB, Taylor C, Griffiths CEM, Herrick AL. Noninvasive imaging techniques in the assessment of scleroderma spectrum disorders. Arthritis Rheum. 2009;61:1103–1111.

Nadkarni SK, Bouma BE, Yelin D, Gulati A, Tearney GJ. Laser speckle imaging of atherosclerotic plaques through optical fiber bundles. J Biomed Opt. 2008;13(5):054016.

Nat Rev Rheumatol. 2012;8:469–479.

Nagy Z, Czirják L. Nailfold digital capillaroscopy in 447 patients with connective tissue disease and Raynaud's disease. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2004;18(1):62-8.

Nigrovic PA, Fuhlbrigge RC, Sundel RP. Raynaud's phenomenon in children: a retrospective review of 123 patients.Pediatrics. 2003;111(4 Pt 1):715-721.

Obadia N, Lessa MA, Daliry A, Silvares RR, Gomes F, Tibiriçá E, Estato V. Cerebral microvascular dysfunction in metabolic syndrome is exacerbated by ischemia-reperfusion injury. BMC Neurosci. 2017- 8;18(1):67.

O'Keeffe ST, Tsapatsaris NP, Beetham WP Jr. Increased prevalence of migraine and chest pain in patients with primary Raynaud disease. Ann Intern Med. 1992;116(12 Pt 1):985-989.

Pain CE, Constantin T, Toplak N,és mtsa. Paediatric Rheumatology European Society (PRES) Juvenile Scleroderma Working Group. Raynaud's syndrome in children: systematic review and development of recommendations for assessment and monitoring. Clin Exp Rheumatol. 2016;34 Suppl 100(5):200-206.

Pauling JD, Shipley JA, Hart DJ, McGrogan A, McHugh NJ. Use of Laser Speckle Contrast Imaging to Assess Digital Microvascular Function in Primary Raynaud Phenomenon and Systemic Sclerosis: A Comparison Using the Raynaud Condition Score Diary. J Rheumatol. 2015;42(7):1163-1168.

Pavlov-Dolijanović S, Damjanov N, Ostojić P, Susić G, Stojanović R, Gacić D,Grdinić A. The prognostic value of nailfold capillary changes for the development of connective tissue disease in children and adolescents with primary raynaud phenomenon: a follow-up study of 250 patients. Pediatr Dermatol. 2006;23(5):437-442.

Pavlov-Dolijanovic S, Damjanov NS, Stojanovic RM, Vujasinovic Stupar NZ, Stanisavljevic DM. Scleroderma pattern of nailfold capillary changes as predictive value for the development of a connective tissue disease: a follow-up study of 3,029 patients with primary Raynaud’s phenomenon. Rheumatol Int. 2012;32:3039–3045.

Picart C, Carpentier PH, Brasseur S, Galliard H, Piau JM. Systemic sclerosis: blood rheometry and laser Doppler imaging of digital cutaneous microcirculation during local cold exposure. Clin Hemorheol Microcirc. 1998;18:47–58.

Piotto DG, Hilário MO, Carvalho NS, Len CA, Andrade LE, Terreri MT. Prospective nailfold capillaroscopy evaluation of Raynaud's phenomenon in children and adolescents. Acta Reumatol Port. 2013;38(2):114-121.

Poredos P, Poredos P. Raynaud's Syndrome: a neglected disease. Int Angiol. 2016;35(2):117-121.

Prete M, Fatone MC, Favoino E, Perosa F. Raynaud's phenomenon: from molecular pathogenesis to therapy. Autoimmun Rev. 2014;13(6):655-67.

Priollet P. Vayssairat M, Housset E. How to classify Raynaud's phenomenon. Long-term follow-up study of 73 cases. Am J Med. 1987;83(3):494-498.

Reed KB, Davis MD. Incidence of erythromelalgia: a population-based study in Olmsted County,Minnesota. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2009;23(1):13-15.

Rirash F, Tingey PC, Harding SE és mtsai. Calcium channel blockers for primary and secondary Raynaud's phenomenon. Cochrane Database Syst Rev. 2017 Dec 13;12:CD000467.

Rosato E, Rossi C, Molinaro I, Giovannetti A, Pisarri S, Salsano F. Laser Doppler perfusion imaging in systemic sclerosis impaired response to cold stimulation involves digits and hand dorsum. Rheumatology (Oxford). 2011;50(9):1654-1658.

Rossi M., Bazzichi L, Di Maria , Franzoni F, Raimo K, Della Rossa A, Santoro

G, Bombardieri S. Blunted increase of digital skin vasomotion following acetylcholine and sodium nitroprusside iontophoresis in systemic sclerosis patients. Rheumatology (Oxford). 2008; 47:1012–1017.

Roustit M, Simmons GH, Baguet J-P, Carpentier P, Cracowski J-L. Discrepancy between simultaneous digital skin microvascular and brachial artery macrovascular post-occlusive hyperemia in systemic sclerosis. J Rheumatol. 2008;35:1576–1583.

Roustit M, Simmons GH, Carpentier P, Cracowski JL. Abnormal digital neurovascular response to local heating in systemic sclerosis. Rheumatol Oxf Engl. 2008;47:860–864.

Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski J-L. Impaired transient vasodilation and increased vasoconstriction to digital local cooling in primary Raynaud's phenomenon. AJP Heart Circ Physiol. 2011;301:H324–330.

Ruaro B, Sulli A, Pizzorni C, Paolino S, Smith V, Alessandri E,Trombetta AC et al. Correlations between blood perfusion and dermal thickness in different skin areas of systemic sclerosis patients. Microvasc Res. 2017:115:28-33.

Sandker SC, Hondebrink E, Grandjean JG, Steenbergen W. Laser speckle contrast analysis for quantifying the Allen test: a feasibility study. Lasers Surg Med. 2014:46(3):186-192.

Sardana M, Moll M, Farber HW. Novel investigational therapies for treating pulmonary arterial hypertension. Expert Opin Investig Drugs. 2015;24(12):1571-96.

Schlager O, Willfort-Ehringer A, Hammer A, Steiner S, Fritsch M, Giurgea A, et al. Microvascular function is impaired in children with morbid obesity. Vasc Med Lond Engl. 2011;16:97–102.

Schlattmann P, Höhne J, Plümper M. The association of Raynaud's phenomenon/syndrome with scleroderma and Sjögren's syndrome-a meta-analysis. VASA 2008,S 73:26-32.

Sekiyama JY, Camargo CZ, Eduardo L, Andrade C, Kayser C. Reliability of widefield nailfold capillaroscopy and video capillaroscopy in the assessment of patients with Raynaud's phenomenon. Arthritis Care Res. 2013;65(11):1853-1861.

Shah DA, Khalil RA. Bioactive factors in uteroplacental and systemic circulation link placental ischemia to generalized vascular dysfunction in hypertensive pregnancy and preeclampsia. Biochem Pharmacol. 2015;95(4):211-226.

Sharathkumar AA, Castillo-Caro P. Primary Raynaud's phenomenon in an infant: a case report and review of literature. Pediatr Rheumatol Online J. 2011;9:16.

Shiba M, Suzuki H, Fujimoto M, Shimojo N, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T,

Kanamaru K, Matsushima S, Taki W. Imatinib mesylate prevents cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage via inhibiting tenascin-C expression in rats. Neurobiol Dis. 2012;46(1):172-9.

Shin HK, Nishimura M, Jones PB, Ay H, Boas DA, Moskowitz MA, Ayata C. Mild induced hypertension improves blood flow and oxygen metabolism in transient focal cerebral ischemia. Stroke. 2008;39(5):1548-1555.

Sinha A, Richardson G, Patel RT. Cold agglutinin related acrocyanosis and paroxysmal haemolysis. Eur j Vasc Endovasc Surg 2005;30(5):563-365.

Skrha J, Prázný M, Haas T, Kvasnicka J, Kalvodová B. Comparison of laser-Doppler flowmetry with biochemical indicators of endothelial dysfunction related to early microangiopathy in Type 1 diabetic patients. J Diabetes Complications. 2001;15:234–240.

Smith V, Thevissen K, Trombetta AC, Pizzorni C, Ruaro B, Piette Y, Paolino S, De Keyser F, Sulli A, Melsens K, Cutolo M. EULAR Study Group on Microcirculation in Rheumatic Diseases. Nailfold Capillaroscopy and Clinical Applications in Systemic Sclerosis. Microcirculation. 2016;23(5):364-372.

Smyth AE, Hughes AE, Bruce IN, Bell AL. A case-control study of candidate vasoactive mediator genes in primary Raynaud's phenomenon. Rheumatology (Oxford). 1999;38(11):1094-8.

Spencer- Green G. Outcomes in Primary Raynaud Phenomenon. A Meta-analysis of the Frequency, Rates, and Predictors of Transition to Secondary Diseases. Arch Intern Med 1988;158:595-600.

Sullivan WD, Hurst DJ, Harmon CE, Esther JH, Agia GA, Maltby JD, Lillard SB, Held CN, Wolfe JF, Sunderrajan EV. A prospective evaluation emphasizing pulmonary involvement in patients with mixed connective tissue disease. Medicine (Baltimore). 1984;63(2):92-107.

Susol E,MacGregor AJ,Barett JH et al. A two-stage, genome-wide screen for susceptibility loci in primary Raynaud's phenomen. Arthritis Rheum.2000,43(7):1641-1646.

Suter LG, Murabito JM, Felson DT, Fraenkel L. The incidence and natural history of Raynaud's phenomenon in the community. Arthritis Rheum. 2005,52(4):1259-1263.

Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease. Blood. 2013;122(7):1114-1121.

Talamo G, Claxton D, Tricot G, Fink L, Zangari M. Response to bortezomib in refractory type I cryoglobulinemia. Am J Hematol. 2008; 83:883–884.

Tang Z, Chen Z, Tang B, Jiang H. Primary erythromelalgia: a review. Orphanet J Rare Dis. 2015;10:127.

Terenghi G, Bunker CB, Liu YF, Springall DR, Cowen T, Dowd PM, et al. Image analysis quantification of peptide-immunoreactive nerves in the skin of patients with Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. J Pathol. 1991;164:245–252.

Thompson AE, Pope JE. Calcium channel blokkers for primary Raynaud's phenomen:a meta-analysis.Rheumatology (Oxford), 2005;44:145-150.

Turan E, Kilic SS. Retrospective view of primary Raynaud's phenomenon in childhood. Reumatol Clin. 2018. pii: S1699-258X(17)30317-0. doi: 10.1016/j.reuma.2017.12.012.

Valentini G, Cuomo G, Abignano G, Petrillo A, Vettori S, Capasso A, Cozzolino D, Del Genio G, Santoriello C. Early systemic sclerosis: assessment of clinical and pre-clinical organ

involvement in patients with different disease features. Rheumatology (Oxford). 2011;50(2):317-323.

Vancheeswaran R, Azam A, Black C, Dashwood MR. Localization of endothelin-1 and its binding sites in scleroderma skin. J. Rheumatol. 1994;21:1268–1276.

Vaz PG, Humeau-Heurtier A, Figueiras E, Correia C, Cardoso J. Laser Speckle Imaging to Monitor Microvascular Blood Flow: A Review. IEEE Rev Biomed Eng. 2016;9:106-120.

Vayssairat M, Abuaf N, Baudot N, Deschamps A, Gaitz JP. Abnormal IgG cardiolipin antibody titers in patients with Raynaud's phenomenon and/or related disorders: prevalence and clinical significance. J Am Acad Dermatol. 1998;38(4):555-558.

Vona R, Giovannetti A, Gambardella L, Malorni W, Pietraforte D,Straface E. Oxidative stress in the pathogenesis of systemic scleroderma: An overview. J Cell Mol Med. 2018. doi: 10.1111/jcmm.13630. [Epub ahead of print].

Wang M, Zhang J, Spinetti G, Jiang LQ, Monticone R, Zhao D, Cheng L, Krawczyk M, Talan M, Pintus G, Lakatta EG. Angiotensin II activates matrix metalloproteinase type II and mimics age-associated carotid arterial remodeling in young rats. Am J Pathol. 2005;167:1429–42.

Wigley FM. Clinical practice. Raynaud's Phenomenon. N Engl J Med. 2002:26;347(13):1001-1008.

Wigley FM. Vascular disease in scleroderma. Clin. Rev. Allergy Immunol. 2009;36:150–175.

Wigley FM, Herrick AL. Raynaud’s phenomenon. In: Varga J, Denton CP, Wigley FM, editors. Scleroderma: from pathogenesis to comprehensive management. New York, NY: Springer; 2012;p.313–329.

Wollersheim H, Thien T, Hoet MH, Van Venrooy WJ. The diagnostic value of several immunological tests for anti-nuclear antibody in predicting the development of connective tissue disease in patients presenting with Raynaud's phenomenon. Eur J Clin Invest. 1989;19(6):535-541.

Wu MT, Huang PY, Yen CT, Chen CC, Lee MJ. A novel SCN9A mutation responsible for primary erythromelalgia and is resistant to the treatment of sodium channel blockers. PLoS One. 2013;8(1):e55212.

Yan Y, Zhou X, Pan Z, Ma J, Waschek JA, DiCicco-Bloom E. Pro- and anti-mitogenic actions of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in developing cerebral cortex: potential mediation by developmental switch of PAC1 receptor mRNA isoforms. J. Neurosci. 2013; 33:3865-3878.

Zamora MR, O'Brien RF, Rutherford RB, Weil JV. Serum endothelin-1 concentrations and cold provocation in primary Raynaud's phenomenon. Lancet 1990; 336: 1144–1147.

Zheng ZM, Zhang JH, Hu JM, Liu SF, Zhu WP.: Poxviruses isolated from epidemic erythromelalgia in China. Lancet. 1988;1(8580):296.

Zilow G, Kirschfink M, Roelcke D. Red cell destruction in cold agglutinin disease. Infusionsther Transfusionsmed. 1994;21(6):410-415.

A dolgozatban szereplő képek forrása:

Az alábbi képeket az internetről használtam fel:

2. kép: https:*//www.the-rheumatologist.org/article/capillaroscopy-a-safe-and-direct-method-for-ssc-diagnosis/*
3. kép: https:*//www.the-rheumatologist.org/article/capillaroscopy-a-safe-and-direct-method-for-ssc-diagnosis/*
4. kép: PERIMED továbbképző kurzus anyagából
5. kép: PERIMED továbbképző kurzus anyagából
6. kép:https://*med.stanford.edu/newborns/professional-education/photo-gallery/general.html#acrocyanosis*
7. kép: http:*//canacopegdl.com/keyword/erythromelalgia.html)*

A felsoroltakon kívül minden kép saját betegeink ill. Szüleinek beleegyezésével került felhasználásra.

PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

1. Az értekezés alapját képező eredeti közlemények:

Mosdósi B, Bölcskei K, Helyes Z. Impairment of microcirculation and vascular responsiveness in adolescents with primary Raynaud phenomenon. Pediatr Rheumatol Online J. 2018;23;16(1):20.

Mosdósi B, Nyul Z, Nagy A, Bölcskei K, Decsi T, Helyes Z. Severe acrocyanosis precipitated by cold agglutinin secondary to infection with Mycoplasma pneumoniae in a pediatric patient. Croat Med J. 2017;31;58(6):424-430.

Mosdósi Bernadett: Raynaud-szindróma gyermekkorban. Gyermekgyógyászat 2015;66:121-125.

2. Egyéb teljes közlemény:

Mosdósi B. Juvenilis idiopathias arthritis: a diagnózistól a kezelésig. LAM 2018. Közlésre elfogadva.

Cazacu IM, Farkas N, Garami A, Balaskó M, **Mosdósi B**, Alizadeh H, Gyöngyi Z, Rakonczay Z Jr, Vigh É, Habon T, Czopf L, Lazarescu MA, Erőss B, Sahin-Tóth M, Hegyi P. Pancreatitis-Associated Genes and Pancreatic Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-analysis. Pancreas. 2018;47(9):1078-1086.

Mosdósi B, Tóth B. Autoinflammaciós kórképek. Orv Hetil. 2018;159(23):898-907.

Szakács Z, Mátrai P), Hegyi P, Szabó I, Vincze Á, Balaskó M, **Mosdósi B**, Sarlós P, Simon M, Márta K, Mikó A, Pécsi D, Demcsák A, Bajor J. Younger age at diagnosis predisposes to mucosal recovery in celiac disease on a gluten-free diet: A meta-analysis. PLoS One. 2017; 2;12(11):e0187526.

Mosdósi Bernadett, Nyul Zoltán: Antitesthiányos kórképek, kivizsgálás, terápia. LAM 2014;24(4):167–172.

Mosdósi B, Flach E, Bodor B, Adamovich K, Ertl T, Szabó I. Asszisztált reprodukció során született gyermekek vizsgálata. MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 2010;73:(1) pp. 11-16.

Tóth B, Volokha A, Mihas A, Pac M, Bernatowska E, Kondratenko I, Polyakov A,Erdos M, Pasic S, Bataneant M, Szaflarska A, Mironska K, Richter D, Stavrik K,Avcin T, Márton G, Nagy K, Dérfalvi B, Szolnoky M, Kalmár A, Belevtsev M, Guseva M, Rugina A, Kriván G, Timár L, Nyul Z, **Mosdósi B**, Kareva L, Peova S, Chernyshova L, Gherghina I, Serban M, Conley ME, Notarangelo LD, Smith CI, van Dongen J, van der Burg M, Maródi L. Genetic and demographic features of X-linked agammaglobulinemia in Eastern and Central Europe: a cohort study. Mol Immunol. 2009;46(10):2140-6.

Mosdósi Bernadett, Stankovics József, Berki Tímea, Rózsai Barnabás, Tárnok András. Későn manifesztálodó súlyos kombinált immundeficiencia. Gyermekgyógyászat 2005;56:(2)167-171.

Mosdósi B, Decsi T, Nagy K, Soltész G, Maródi L. Súlyos kombinált immundeficiencia korai felismerése és eredményes kezelése. Orv Hetil. 2002;143(36):2081-3.

Mosdósi B, Morava É, Decsi T. Ectrodactylia; ectodermalis dysplasia és szájpadhasadék tünetegyüttes (EEC-szindróma). GYERMEKGYÓGYÁSZAT 2000;51: 570-573.

Az értekezés alapját képező eredeti közlemények kumulatív impakt faktora: 3.965

Az összes publikáció kumulatív impakt faktora: 13,213

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőimnek, Prof. Dr. Helyes Zsuzsannának és Dr. Bölcskei Kata adjunktus Nőnek a munkám során nyújtott rengeteg segítséget és figyelmet. A hatalmas szakmai tudás mellett lelkesedésük, bátorításuk iránymutató volt. Köszönöm a végtelen türelmet, amelyet a klinikai munkám mellett végzett kutatótevékenységem iránt viseltek.

A laboratóriumi vizsgálatokért külön köszönöm PTE Gyógyszertudományi Intézetében Bagoly Teréznek a neuropeptid analízis során nyújtott odaadó segítségét, illetve a PTE Immunológiai és Biotechnológiai Intézet valamennyi munkatársának a betegeim ellátásakor mutatott kimagasló szintű hozzáértését, s fáradhatatalan támogatását.

Hálás köszönettel tartozom Prof. Czirják Lászlónak a klinikai immunológiai iránti elkötezettségem megerősítéséért, illetve munkatársainak, akik a mindennapi betegellátás során hasznos szakmai tanácsaikkal láttak el.

Nagyon hálás vagyok a PTE KK Gyermekklinika összes dolgozójának, nem csupán a szakmai segítségükért, hanem a baráti légkörért is, amiben együtt dolgozhatunk.

Külön köszönettel tartozom nagy mestereimnek, Prof. Soltész Gyulának, Prof. Kajtár Pálnak és Prof. Molnár Dénesnek, néhai dr. Hermann Róbert adjunktus Úrnak, akik töretlen lelkesedéssel és türelemmel tanítottak és bíztattak, megmutatva a gyermekgyógyászati szakma szépségeit, s megerősítették bennem szakmám iráni elhivatottságomat.

Köszönettel tartozom Decsi Tamás intézetvezető Professzor Úrnak munkám támogatásáért.

Hálás köszönetemet fejezem ki Nyul Zoltán adjunktus Úrnak és PTE Gyermekgyógyászati Klinika infektológiai osztály minden orvosának. Külön köszönettel tartozom az osztály nővéreinek, akik odaadó, s töretlen segítségükkel hozzájárultak betegeim gyógyulásához.

Továbbá hálás köszönet illeti asszisztensnőmet, Kozmáné Sabján Vivient, aki pédaértékű, pótolhatatlan segítségét nyújtott betegeim ellátása során, s kedvességével hozzájárult a betegeink hangulatának javításához.

Köszönöm kollegáimnak, Dr. Nagy Arnoldnak a képalkotó LASCA vizsgálat során, továbbá Dr. Horváth Gábornak a dolgozat szerkesztésében nyújtott segítségét.

Végül, de nem utolsósorban szeretnék köszönetet mondani Családomnak, Édesanyámnak, férjemnek, Attilának és drága gyermekeimnek, Dalmának és Daninak. Az ő támogatásuk, végtelen türelmük és szeretetük nélkül nem jutottam volna el idáig. Köszönöm szépen!

FÜGGELÉK

A vizsgálatba beleegyező nyilatkozat

Az értekezés alapját képező eredeti közlemények

BETEGTÁJÉKOZTATÓ
BELEEGYEZÉS KLINIKAI VIZSGÁLATBAN VALÓ RÉSZVÉTELHEZ

A vizsgálat címe: Vascularis szabályozó mechanizmusok vizsgálata gyermekkori Raynaud szindrómás gyermekekben

A vizsgálat helyszíne: Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Gyermekgyógyászati Klinika, 7624 Pécs, József Attila utca 7.
A centrum neve: Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Gyermekgyógyászati Klinika
A vezető vizsgáló neve: Dr. Mosdósi Bernadett
Telefonszáma: +36 72 536-000/37533 mellék
A beteg szűrési száma: _ _
A beteg születési dátuma: _ _ _ _ _ _ _ _

Tisztelt Szülők/törvényes képviselők!
Ezúton kérjük meg Önt, hogy szíveskedjék hozzájárulásukat adni gyermekük klinikai vizsgálatunkban való részvételéhez, melyben a gyermekkori Raynaud-jelenség kialakulásában szerepet játszó mechanizmusokat vizsgáljuk.
Kérjük, szíveskedjék egy kis időt szánni az alábbi tájékoztató elolvasására.
Mielőtt döntést hozna, fontos lenne megértenie, hogy miért végezzük a vizsgálatot és hogy mivel jár a részvétel.
Amennyiben a tervezett vizsgálatokkal kapcsolatban kérdés merül fel Önben, forduljon hozzánk bizalommal. Ha beleegyezik a kutatási vizsgálatban való részvételbe, akkor megkérjük, hogy írja alá ezt a nyilatkozatot, melynek egy példányát megőrizheti.
Köszönjük, hogy elolvassa a tájékoztatót!

Mi a vizsgálat célja?

A gyermeke egy úgynevezett Raynaud szindrómában szenved. Gyermekkori előfordulása pontosan nem ismert, felnőttek, elsősorban nők 5-10 %-ban fordul elő. Hideg hatására, de gyakran stressz által a kéz, láb ujjai fájdalmasan elfehérednek, elsápadnak, melynek oka az ujjakban lévő artériák görcsös összehúzódása. Ezt követően az ujjakban az érgörcs enyhülése után ismét megindul a véráramlás - ekkor az ujjak lilás színűek lesznek. A harmadik fázisban az erek kitágulnak, melynek hatására az ujjak kipirulnak, vörössé válnak. A fenti jellegzetes bőrszínváltozáshoz a fájdalom mellett ujjzsibbadás, érzéketlenség, fekély kialakulása társulhat. A szindrómának két formáját különböztetjük meg. Primer Raynaud szindróma esetén a klinikai tünetek hátterében egyéb kórkép nem mutatható ki, laboratóriumi illetve kapillarmikroszópiás vizsgálat során kórjelző elváltozás nem észlelhető. Szekunder Raynaud szindróma hátterében valamilyen más kórkép áll, ami leggyakrabban autoimmun megbetegedés, pajzsmirigy betegség, artériás elzáródások, fertőző kórképek, vérképzőszervi betegségek, de egyes gyógyszerek, drogok, illetve a dohányzás is előidézhetik a tüneteket.

A Raynaud szindróma kezelésben nagyon fontos a hideg elleni fokozott védekezés, a dohányzási tilalom és a kiváltó faktorok kerülése. Klinkailag bizonyítottan hatékony gyógyszeres terápia nem létezik, adjuváns szerek állnak rendelkezésre, melyekkel a betegek panaszai csökkenthetők, azonban a háttérben álló felderítetlen patofiziológiai folyamatok miatt az oki terápia egyelőre nem lehetséges. Szekunder Raynaud szindróma esetében elengedhetetlen az alapbetegség kezelése.

A Raynaud szindróma hátterében álló molekuláris változások vizsgálatára kevés tanulmány készült, gyermekek esetében ezidáig vizsgálat nem történt.

Jelen vizsgálatban klinikánkon gondozott Raynaud-szindrómás illetve kontroll, panaszmentes gyermekek vizsgálatát tervezzük. A vizsgálat során a belgyógyászati vizsgálaton túl laboratóriumi vizsgálatokkal vizsgáljuk azon molekulákat, melyek az érösszehúzódás kialakításában részt vehetnek. A vizsgálat második lépcsőjeként non-invazív, laser elvén működő műszerek segítségével mérjük az ujjakon az alap vérátáramlást, ill. a vérátáramlást vizsgáljuk hideg ill. meleg vizes provokációt követően.

A részletes laboratóriumi és vérátáramlási vizsgálatok célja a Raynaud-szindróma kórfolyamatának részletesebb megismerése, ami esetlegesen újabb kezelési stratégiák kidolgozásához vezethet.

Kötelező részt venni a vizsgálatban?

A részvétel a klinikai vizsgálatban önkéntes.

Bármikor és bármilyen meggondolásból visszavonhatja gyermeke vizsgálatban való részvételre vonatkozó beleegyezését, anélkül, hogy ez befolyásolná a gyermekének ajánlott és nyújtott ellátás minőségét, illetve kapcsolatát a vizsgálóval.
Ha úgy dönt, hogy gyermekét a vizsgálattól visszalépteti, egyetlen további személyes adat sem kerül begyűjtésre és kérheti, hogy a vizsgálat céljára begyűjtött vérmintákon semmiféle további elemzést ne végezzenek. Az Ön feladata közölni vizsgálójával hogy ezt így kívánja, különben valamennyi vérminta eredeti rendeltetésének megfelelően kerül felhasználásra.

Mi történik, ha részt vesznek a vizsgálaton?
Gyermeke immunológiai gondozásba vétele már megtörtént. Az ambuláns beteggondozás során kikérdezzük Önt a családtagok krónikus betegségéről, gyermeke előző betegségeiről, rendszeresen szedett gyógyszereiről, gyógyszerérzékenységéről, műtétről, gyermeke jelenlegi panaszairól, nagy hangsúlyt fektetve az autoimmun tünetekre. A részletes anamnézis felvételt követően belgyógyászati fizikális vizsgálatot végzünk. A laboratóriumi vizsgálat részeként kb. 2x5 ml vért veszünk le, melynek során a Raynaud jelenség kiváltásában résztvevő molekulákat vizsgáljuk. A vérvételt követően non-invazív műszeres vizsgálatot végzünk, mely során a kézujjak vérátáramlását mérjük laser-doppler technika segítségével. A tervezett vizsgálat egy-két napot vesz igénybe.

Milyen mellékhatások léphetnek fel, milyen kockázata van a vizsgálatnak?
A rutin orvosi vizsgálat kockázattal nem jár. A vérvétel egyszerű vénaszúrással történik, mely szintén nem jár kockázattal. Esetenként néhány embernél a vérvétel során enyhe szédülés, gyengeségérzés jelentkezhet. A műszeres vizsgálat non-invazív, a tervezett hideg-meleg provokáció során a kézujjak esetenkénti elszíneződésén túl egyéb elváltozás kialakulása nem várható.
Ha a vizsgálat időtartama alatt bármilyen mellékhatást tapasztal, haladéktalanul tájékoztassa erről orvosát, ha szükségesnek véli telefonon is beszélhet vele. Orvosának elérhetősége a tájékoztató végén található.

A részvétel milyen előnyöket jelent számomra?
Nem ígérhetjük Önnek, hogy a részvétel előnnyel jár. A vizsgálatból nyert adatok segítenek minket, hogy pontosabban megértsük a Raynaud-jelenség során lejátszódó folyamatokat és a jelenség részletesebb megismerésével esetlegesen újabb kezelési stratégiákat tudjunk kidolgozni.

Mi a teendő, ha valami nem a terveknek megfelelően alakul?

Ha bármilyen szokatlan mellékhatást, tünetet vagy reakciót tapasztal, azonnal tájékoztassa gyermeke orvosát. Elérhetősége a tájékoztató végén található.

Ha a vizsgálat bármely részével kapcsolatban kérdése merülne fel, beszéljen gyermeke orvosával, aki készségesen megválaszolja azokat. Elérhetősége a tájékoztató végén található.

Részvételt titokban tartják-e?

A vizsgálati személyekkel kapcsolatos összes adatot bizalmasan kezeljük. Tudniuk kell, hogy a betegek adatainak védelmét Magyarországon törvény is szabályozza, mégpedig az emberi felhasználásra kerülő vizsgálati készítmények klinikai vizsgálatáról és a helyes klinikai gyakorlat alkalmazásáról szóló 35/2005. (VIII. 26.) EüM rendelet, az alábbiak szerint: „A klinikai vizsgálatok során a személyes adatok védelméről és a közérdekű adatok nyilvánosságáról szóló 1992. évi LXIII. törvény, az egészségügyi és a hozzájuk kapcsolódó személyes adatok kezeléséről és védelméről szóló 1997. évi XLVII. törvény, valamint a külön jogszabályokba foglalt adatkezelésre vonatkozó rendelkezéseket alkalmazni kell."

A vizsgálat időtartama alatt a vizsgálati eredményeket dokumentáljuk, tároljuk és elemezzük tudományos célból. Az orvosi szakirodalomban a vizsgálat eredményei megjelenhetnek, azonban a gyermekét akkor sem lehet majd név szerint beazonosítani. Emellett engedélyt ad arra is, hogy a (vizsgálat biztonságosságát és etikusságát ellenőrző és a betegjogok tiszteletben tartását biztosító) kórházi etikai bizottság és/vagy a vizsgáló személyzet (orvosok és ápolók) rendelkezésére bocsássák.

Minden vizsgálatot a „Helyes Klinikai Gyakorlat" és Helsinki Nyilatkozat alapján kell végezni. Ezt a vizsgálatot a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Intézményi és a Dél-dunántúli Regionális Kutatásetikai Bizottsága ellenőrizte, s a fentebb említett irányelveknek megfelelő módon kerül kivitelezésre.

Kérésekkel kihez fordulhatnak?

Reméljük, hogy a klinikai vizsgálat minden lényeges szempontját elmagyaráztuk Önöknek. A vizsgálatba történő belegyezés előtt Önök teljes körűen megbeszéltek gyermekük orvosával és megértették a vizsgálatot, annak céljait és a vizsgálati eljárásokat, amelyeket az alábbiakban megnevezett vizsgáló (orvos) magyarázott el. Felajánlottuk, hogy nyugodtan tegyen fel bármilyen kérdést a vizsgálattal kapcsolatban. A beleegyezés előtt meggyőződtek arról, hogy minden kérését kielégítően teljesítettük. Biztos abban, hogy elegendő időt kapott arra, hogy átgondolja gyermekének vizsgálatban való részvételét.

Ha a vizsgálattal kapcsolatban kérdésük vagy problémájuk merülne fel, az alábbi telefonszámon érheti el az orvost:

A vizsgáló neve: Dr. Mosdósi Bernadett, PTE KK Gyermekgyógyászati Klinika
Telefonszáma: 06-72/536-900/37533 mellék
Cím: 7623 Pécs, József A.u.7.
A vizsgálattal kapcsolatos minden szóbeli és írásbeli tájékoztatás és beszélgetés magyar nyelven történik.

_____ _____

1.Szülő/ törvényes képviselő
neve nyomtatott betűkkel Szülő/ törvényes képviselő aláírása
Szülő/ törvényes képviselő születési helye, ideje:
Részvételről szóló döntés hely, dátuma:

_____ _____

2. Szülő/ törvényes képviselő
neve nyomtatott betűkkel Szülő/ törvényes képviselő aláírása
Szülő/ törvényes képviselő születési helye, ideje: _____
Részvételről szóló döntés hely, dátuma:

A beteget ill. a Szülőket/törvényes képviselőket a vonatkozó törvények értelmében tájékoztattam.

_____ _____

Orvos neve nyomtatott betűkkel Orvos aláírása
Dátum:

Beleegyező nyilatkozat gyermekeknek

Ezt a részt a gyermeknek kell kitölteni

Elolvastad a betegtájékoztatót? Igen Nem

Megértetted a leírtakat? Igen Nem

Válaszolt az orvos minden kérdésedre? Igen Nem

Szeretnél részt venni a vizsgálatban? Igen Nem

Amennyiben a fenti kérdések bármelyikére „Nem" a válaszod vagy ha nem akarsz részt venni a vizsgálatban, ne írd alá ezt a nyilatkozatot.

Ha részt szeretnél venni ebben a vizsgálatban, írd be a neved, a dátumot, majd írd alá.

Név (nyomtatottan): _____

Születési hely, idő: _____

Aláírás: _____

Az aláírás dátuma és ideje: _____

A vizsgálatot végző orvos:

Név (nyomtatottan): _____

Aláírás: _____

Az aláírás helye és ideje: _____

EGÉSZSÉGES GYERMEK részére TÁJÉKOZTATÓ

BELEEGYEZÉS KLINIKAI VIZSGÁLATBAN VALÓ RÉSZVÉTELHEZ

A vizsgálat címe: Vascularis szabályozó mechanizmusok vizsgálata gyermekkori Raynaud szindrómás gyermekekben

A vizsgálat helyszíne: Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Gyermekgyógyászati Klinika, 7624 Pécs, József Attila utca 7.

A centrum neve: Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Gyermekgyógyászati Klinika

A vezető vizsgáló neve: Dr. Mosdósi Bernadett

Telefonszáma: +36 72 536-000/37533 mellék

A gyermek szűrési száma: _ _

A gyermek születési dátuma: _ _ _ _ _ _ _ _

Tisztelt Szülők/törvényes képviselők!

Ezúton kérjük meg Önt, hogy szíveskedjék hozzájárulásukat adni gyermekük klinikai vizsgálatunkban való részvételéhez, melyben a gyermekkori Raynaud-jelenség kialakulásában szerepet játszó mechanizmusokat vizsgáljuk.

Kérjük, szíveskedjék egy kis időt szánni az alábbi tájékoztató elolvasására.

Mielőtt döntést hozna, fontos lenne megértenie, hogy miért végezzük a vizsgálatot és hogy mivel jár a részvétel.

Amennyiben a tervezett vizsgálatokkal kapcsolatban kérdés merül fel Önben, forduljon hozzánk bizalommal. Ha beleegyezik a kutatási vizsgálatban való részvételbe, akkor megkérjük, hogy írja alá ezt a nyilatkozatot, melynek egy példányát megőrizheti.

Köszönjük, hogy elolvassa a tájékoztatót!

Mi a vizsgálat célja?

Jelen klinikai vizsgálat során egészséges, panaszmentes illetve Raynaud szindrómás gyermekek összehasonlító vizsgálatát tervezzük.

A Raynaud szindróma gyermekkori előfordulása pontosan nem ismert, felnőttek, elsősorban nők 5-10 %-ban fordul elő. Hideg hatására, de gyakran stressz által a kéz, láb ujjai fájdalmasan elfehérednek, elsápadnak, melynek oka az ujjakban lévő artériák görcsös összehúzódása. Ezt követően az ujjakban az érgörcs enyhülése után ismét megindul a véráramlás - ekkor az ujjak lilás színűek lesznek. A harmadik fázisban az erek kitágulnak, melynek hatására az ujjak kipirulnak, vörössé válnak. A fenti jellegzetes bőrszínváltozáshoz a fájdalom mellett ujjzsibbadás, érzéketlenség, fekély kialakulása társulhat.

A szindrómának két formáját különböztetjük meg. Primer Raynaud szindróma esetén a klinikai tünetek hátterében egyéb kórkép nem mutatható ki, laboratóriumi illetve kapillarmikroszópiás vizsgálat során kórjelző elváltozás nem észlelhető. Szekunder Raynaud szindróma hátterében valamilyen más kórkép áll, ami leggyakrabban autoimmun megbetegedés, pajzsmirigy betegség, artériás elzáródások, fertőző kórképek, vérképzőszervi betegségek, de egyes gyógyszerek, drogok, illetve a dohányzás is előidézhetik a tüneteket.

A Raynaud szindróma kezelésben nagyon fontos a hideg elleni fokozott védekezés, a dohányzási tilalom és a kiváltó faktorok kerülése. Klinkailag bizonyítottan hatékony gyógyszeres terápia nem létezik, adjuváns szerek állnak rendelkezésre, melyekkel a betegek panaszai csökkenthetők, azonban a háttérben álló felderítetlen patofiziológiai folyamatok miatt az oki terápia egyelőre nem lehetséges. Szekunder Raynaud szindróma esetében elengedhetetlen az alapbetegség kezelése.

A Raynaud szindróma hátterében álló molekuláris változások vizsgálatára kevés tanulmány készült, gyermekek esetében ezidáig vizsgálat nem történt.

Vizsgálatunk során a belgyógyászati vizsgálaton túl laboratóriumi vizsgálatokkal vizsgáljuk azon molekulákat, melyek az érösszehúzódás kialakításában részt vehetnek. A vizsgálat második lépcsőjeként non-invazív, laser elvén működő műszerek segítségével mérjük az ujjakon az alap vérátáramlást, ill. a vérátáramlást vizsgáljuk hideg ill. meleg vizes provokációt követően. A részletes laboratóriumi és vérátáramlási vizsgálatok célja a Raynaud-szindróma kórfolyamatának részletesebb megismerése, ami esetlegesen újabb kezelési stratégiák kidolgozásához vezethet.

Kötelező részt venni a vizsgálatban?

A részvétel a klinikai vizsgálatban önkéntes.

Bármikor és bármilyen meggondolásból visszavonhatja gyermeke vizsgálatban való részvételre vonatkozó beleegyezését, anélkül, hogy ez befolyásolná a gyermekének ajánlott és nyújtott ellátás minőségét, illetve kapcsolatát a vizsgálóval.
Ha úgy dönt, hogy gyermekét a vizsgálattól visszalépteti, egyetlen további személyes adat sem kerül begyűjtésre és kérheti, hogy a vizsgálat céljára begyűjtött vérmintákon semmiféle további elemzést ne végezzenek. Az Ön feladata közölni vizsgálójával hogy ezt így kívánja, különben valamennyi vérminta eredeti rendeltetésének megfelelően kerül felhasználásra.

Mi történik, ha részt vesznek a vizsgálaton?
Az ambuláns beteggondozás során kikérdezzük Önt a családtagok krónikus betegségéről, gyermeke előző betegségeiről, rendszeresen szedett gyógyszereiről, gyógyszerérzékenységéről, műtétről, gyermeke jelenlegi panaszairól, nagy hangsúlyt fektetve az autoimmun tünetekre. A részletes anamnézis felvételt követően belgyógyászati fizikális vizsgálatot végzünk. A laboratóriumi vizsgálat részeként kb. 2x5 ml vért veszünk le, melynek során a Raynaud jelenség kiváltásában résztvevő molekulákat vizsgáljuk. A vérvételt követően non-invazív műszeres vizsgálatot végzünk, mely során a kézujjak vérátáramlását mérjük laser-doppler technika segítségével. A tervezett vizsgálat egy-két napot vesz igénybe.

Milyen mellékhatások léphetnek fel, milyen kockázata van a vizsgálatnak?
A rutin orvosi vizsgálat kockázattal nem jár. A vérvétel egyszerű vénaszúrással történik, mely szintén nem jár kockázattal. Esetenként néhány embernél a vérvétel során enyhe szédülés, gyengeségérzés jelentkezhet. A műszeres vizsgálat non-invazív, a tervezett hideg-meleg provokáció során a kézujjak esetenkénti elszíneződésén túl egyéb elváltozás kialakulása nem várható.
Ha a vizsgálat időtartama alatt bármilyen mellékhatást tapasztal, haladéktalanul tájékoztassa erről orvosát, ha szükségesnek véli, telefonon is beszélhet vele. Orvosának elérhetősége a tájékoztató végén található.

A részvétel milyen előnyöket jelent számomra?
Nem ígérhetjük Önnek, hogy a részvétel előnnyel jár. A vizsgálatból nyert adatok segítenek minket, hogy pontosabban megértsük a Raynaud-jelenség során lejátszódó folyamatokat és a jelenség részletesebb megismerésével esetlegesen újabb kezelési stratégiákat tudjunk kidolgozni.

Mi a teendő, ha valami nem a terveknek megfelelően alakul?

Ha bármilyen szokatlan mellékhatást, tünetet vagy reakciót tapasztal, azonnal tájékoztassa gyermeke orvosát. Elérhetősége a tájékoztató végén található.

Ha a vizsgálat bármely részével kapcsolatban kérdése merülne fel, beszéljen gyermeke orvosával, aki készségesen megválaszolja azokat. Elérhetősége a tájékoztató végén található.

Részvételt titokban tartják-e?

A vizsgálati személyekkel kapcsolatos összes adatot bizalmasan kezeljük. Tudniuk kell, hogy a betegek adatainak védelmét Magyarországon törvény is szabályozza, mégpedig az emberi felhasználásra kerülő vizsgálati készítmények klinikai vizsgálatáról és a helyes klinikai gyakorlat alkalmazásáról szóló 35/2005. (VIII. 26.) EüM rendelet, az alábbiak szerint: „A klinikai vizsgálatok során a személyes adatok védelméről és a közérdekű adatok nyilvánosságáról szóló 1992. évi LXIII. törvény, az egészségügyi és a hozzájuk kapcsolódó személyes adatok kezeléséről és védelméről szóló 1997. évi XLVII. törvény, valamint a külön jogszabályokba foglalt adatkezelésre vonatkozó rendelkezéseket alkalmazni kell."

A vizsgálat időtartama alatt a vizsgálati eredményeket dokumentáljuk, tároljuk és elemezzük tudományos célból. Az orvosi szakirodalomban a vizsgálat eredményei megjelenhetnek, azonban a gyermekét akkor sem lehet majd név szerint beazonosítani. Emellett engedélyt ad arra is, hogy a (vizsgálat biztonságosságát és etikusságát ellenőrző és a betegjogok tiszteletben tartását biztosító) kórházi etikai bizottság és/vagy a vizsgáló személyzet (orvosok és ápolók) rendelkezésére bocsássák.

Minden vizsgálatot a „Helyes Klinikai Gyakorlat" és Helsinki Nyilatkozat alapján kell végezni. Ezt a vizsgálatot a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Intézményi és a Dél-dunántúli Regionális Kutatásetikai Bizottsága ellenőrizte, s a fentebb említett irányelveknek megfelelő módon kerül kivitelezésre.

Kérésekkel kihez fordulhatnak?

Reméljük, hogy a klinikai vizsgálat minden lényeges szempontját elmagyaráztuk Önöknek. A vizsgálatba történő belegyezés előtt Önök teljes körűen megbeszéltek gyermekük orvosával és megértették a vizsgálatot, annak céljait és a vizsgálati eljárásokat, amelyeket az alábbiakban megnevezett vizsgáló (orvos) magyarázott el. Felajánlottuk, hogy nyugodtan tegyen fel bármilyen kérdést a vizsgálattal kapcsolatban. A beleegyezés előtt meggyőződtek arról, hogy minden kérését kielégítően teljesítettük. Biztos abban, hogy elegendő időt kapott arra, hogy átgondolja gyermekének vizsgálatban való részvételét.

Ha a vizsgálattal kapcsolatban kérdésük vagy problémájuk merülne fel, az alábbi telefonszámon érheti el az orvost:

A vizsgáló neve: Dr. Mosdósi Bernadett, PTE KK Gyermekgyógyászati Klinika

Telefonszáma: 06-72/536-900/37533 mellék

Cím: 7623 Pécs, József A.u.7.

A vizsgálattal kapcsolatos minden szóbeli és írásbeli tájékoztatás és beszélgetés magyar nyelven történik.

_____ _____

1.Szülő/ törvényes képviselő

neve nyomtatott betűkkel Szülő/ törvényes képviselő aláírása

Szülő/ törvényes képviselő születési helye, ideje: _____

Részvételről szóló döntés hely, dátuma:

_____ _____

2. Szülő/ törvényes képviselő

neve nyomtatott betűkkel Szülő/ törvényes képviselő aláírása

Szülő/ törvényes képviselő születési helye, ideje: _____

Részvételről szóló döntés hely, dátuma:

A beteget ill. a Szülőket/ törvényes képviselőket a vonatkozó törvények értelmében tájékoztattam.

_____ _____

Orvos neve nyomtatott betűkkel Orvos aláírása

Dátum:

Beleegyező nyilatkozat egészséges gyermekeknek

Ezt a részt a gyermeknek kell kitölteni

Elolvastad a betegtájékoztatót? Igen Nem

Megértetted a leírtakat? Igen Nem

Válaszolt az orvos minden kérdésedre? Igen Nem

Szeretnél részt venni a vizsgálatban? Igen Nem

Amennyiben a fenti kérdések bármelyikére „Nem" a válaszod vagy ha nem akarsz részt venni a vizsgálatban, ne írd alá ezt a nyilatkozatot.

Ha részt szeretnél venni ebben a vizsgálatban, írd be a neved, a dátumot, majd írd alá.

Név (nyomtatottan): _____

Születési hely, idő: _____

Aláírás: _____

Az aláírás dátuma és ideje: _____

A vizsgálatot végző orvos:

Név (nyomtatottan): _____

Aláírás: _____

Az aláírás helye és ideje: __ _____

CASE REPORT

Croat Med J. 2017;58:424-30
https://doi.org/10.3325/cmj.2017.58.424

Severe acrocyanosis precipitated by cold agglutinin secondary to infection with *Mycoplasma pneumoniae* in a pediatric patient

Bernadett Mosdósi[1], Zoltán Nyul[1], Arnold Nagy[1], Kata Bölcskei[2], Tamás Decsi[1], Zsuzsanna Helyes[2,3]

[1]Department of Pediatrics, Clinical Center, University of Pecs, Pecs, Hungary

[2]Department of Pharmacology and Pharmacotherapy, Medical School and János Szentágothai Research Center, University of Pécs, Pécs, Hungary

[3]MTA-PTE NAP B Chronic Pain Research Group

This is the first report describing a severe form of cold agglutinin-induced acrocyanosis with cutaneous necrosis after Mycoplasma infection in a 9-year-old patient without any other severe symptoms and laboratory alterations. We also present the results of two non-invasive methods used to determine the viability of tissues, degree of tissue perfusion impairment, and the responsiveness of the microvasculature. Laser Doppler flowmetry and laser speckle contrast imaging, both suitable to measure tissue blood perfusion non-invasively, have been used in the diagnosis and follow-up of various peripheral vascular diseases. In our patient, we demonstrated remarkably reduced microcirculation before the treatment and a significant perfusion increase in the acral regions after pentoxifylline therapy. The investigational techniques were useful tools to assess and quantify the severity of peripheral perfusion disturbances and to monitor the efficacy of the treatment in our patient.

Received: January 13, 2017

Accepted: December 29, 2017

Correspondence to:
Bernadett Mosdósi
Department of Pediatrics
Clinical Center, University of Pécs
József Attila u. 7.
H-7623 Pécs, Hungary
mosdosi.bernadett@pte.hu

Acrocyanosis is a vascular disease usually characterized by persistent, non-paroxysmal, bluish-red symmetrical discoloration of the hands and feet. It may also affect the ear lobes and the tip of the nose. The disease usually manifests before the age of 25. Acrocyanosis can occur in the primary form without detectable previous disease or in the secondary form resulting from specific disorders, such as cold agglutinin syndrome (CAS) (1-3).

Together with paroxysmal cold hemoglobinuria (PCH), the CAS is classified into the group of cold autoimmune hemolytic anemias, representing a subgroup of autoimmune hemolytic anemias. The diagnosis of these clinically distinctive disorders is based on their characteristic serologic reactions. CAS is etiologically further divided into idiopathic and secondary forms caused by underlying nonmalignant or malignant diseases (3).

In contrast to PCH, CAS is generally caused by IgM autoantibodies that exhibit their maximum reactivity at 4°C. Cold agglutinins (CA) circulate in nearly everyone, but in low titer (3,4), whereas clinically significant agglutinins occur at titers of 1:1000 with thermal activity range extended toward warmer temperatures. When blood temperature drops below the thermal maximum of the antibody, IgM binds to erythrocytes and causes agglutination and complement activation responsible for hemolysis. The clumped erythrocytes may occlude peripheral microvasculature, which may lead to acrocyanosis and, in severe cases, ischemic gangrenes.

The characteristic clinical manifestations of CAS consist of hemoglobinuria, acrocyanosis, Raynaud's phenomenon, cutaneous necrosis, and occasionally gangrene. The symptoms appear or worsen typically at cold temperature (2,3,5), but the extent of the hypoperfusion is not routinely measured in the clinical practice.

To the best of our knowledge, this is the first case report of severe acrocyanosis precipitated by cold agglutinin secondary to infection with *Mycoplasma pneumoniae* in a pediatric patient. A further novelty of the case is the use of two non-invasive techniques, not used in routine practice, to determine the severity of microcirculatory impairment and evaluate the effectiveness of therapy.

CASE REPORT

A 9-year-old Caucasian girl, born at 39 weeks of gestation after an uneventful pregnancy, had been taking inhaled steroid (fluticasone proprionate) medication for asthma for 2 years, but otherwise had an unremarkable medical history. She had undergone all routine immunizations at the appropriate ages.

The patient had become subfebrile and developed unproductive cough two weeks before admission to hospital. She was treated with amoxicillin-clavulanate antibiotic and fluticasone proprionate and salbutamol inhalation. One week later, painful, bluish discoloration of the fingers occurred, which was worsening in cold temperature. She was referred to our emergency unit.

On physical examination, the patient's fingers and toes were cold, blue, and tender, with a small cutaneous necrosis of the digital phalanx of the fourth finger (Figure 1). Sclerodactyly was not observed. Radial and axillary pulses on both sides were equal and regular, and blood pressure and heart rate were in the normal range. The elevated arm test was not indicative for thoracic outlet syndrome. Crepitation was observed above the middle lobe of the right lung. No further abnormalities were seen on physical and neurological examination.

Routine laboratory tests including hematocrit (Htc), hemoglobin (Hgb), white blood cell count (WBC), platelets, differential blood smear, C- reactive protein (CRP), lactate dehydrogenase (LDH), transaminases, thyroid stimulating hormone (TSH), coagulation parameters, and serum creatinine. All laboratory findings were in reference ranges, while erythrocyte sedimentation rate (ESR) was slightly increased. Urinalysis was not indicative for hemolysis. Immu-

FIGURE 1. Severe acrocyanosis with cutaneous necrosis in the 9-year-old female patient (photo taken at the time of first admission).

noglobulin and complement C3 and C4 levels were also normal and the screening test excluded the presence of cryoglobulins. Direct antiglobulin test (Coombs test) detected the presence of both IgM and C3d. IgM exhibited a peak auto-agglutination at 4°C; its reactivity gradually vanished above room temperature and became inactive at 37°C (Table 1).

Immunoserological investigations revealed increased anti-nucleosoma antibody (76.9 UI/mL, normal <20 UI/mL), while other autoantibodies (anti-nuclear, anti-dsDNA, anti-centromere, anti-C1Q, extractable nuclear antibody, anti-saccharomyces cerevisieae antibodies, anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, anticardiolipin and anti-beta 2 glycoprotein, and antiprothrombin) were in the normal range. Infectious serology results for Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, Varicella zoster virus, human immunodeficiency virus (HIV)-1,-2, Parvovirus B19, Hepatitis -A, -B, -C, -E virus, Chlamydia pneumoniae excluded recent infections. The antistreptolysin-O titer was normal. The venereal diseases research laboratory test VDRL was non-reactive. Mycoplasma IgM and IgA antibodies were markedly increased, whereas IgG was slightly increased, ie, these findings indicated recent *Mycoplasma pneumoniae* infection.

Chest x-ray revealed pneumonia in the right lobe. Abdominal ultrasound findings were normal. Echocardiography showed normal cardiac anatomy, and the patient had good peripheral pulses with normal flow on Doppler examination. Ophthalmological examination was not indicative for vasculitis. Ramified capillaries were observed with capillary microscopy.

TABLE 1. Thermal activity of cold agglutinins at different time points

	Cold agglutinins activity*			
Date of examination	4°C	15°C	20°C	25°C
December 10, 2014	++++	++	+	-
May 20, 2015	+++	++	+/–	-
January 10, 2016	+++	++	-	-

*The positive agglutination reaction is graded by a semiquantitative score from + to 4+.

TABLE 2. Numerical data characterizing the baseline blood flow and the heat-induced perfusion increase in our patient and a healthy child, calculated from the measurements with the Periflux 5000 system*

	Mean perfusion (arbitrary units)		Latency to reach maximum (minutes)
	at 32°C	at 42°C	
Patient	36.14	126.74	4:12
Healthy	455.70	811.65	0:51

*Data from the 44°C stimulation not shown as we did not measure any apparent increase during this period compared with the 42°C heating.

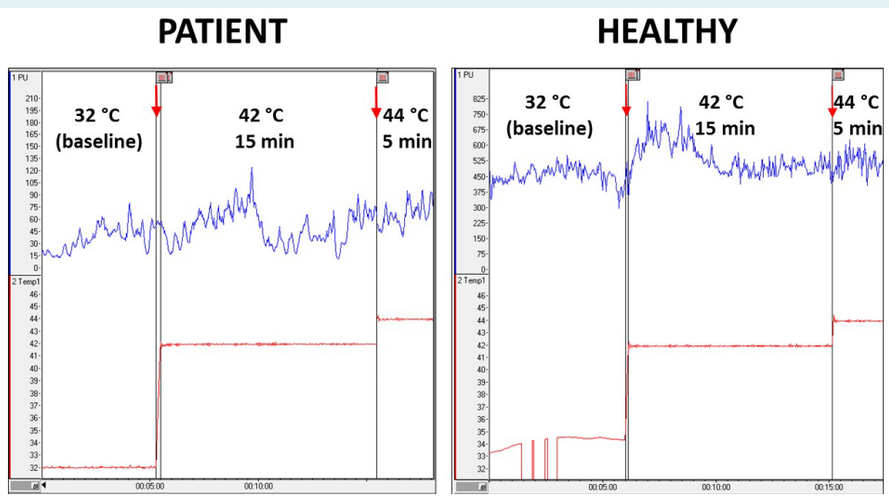


FIGURE 2. Measurement of blood flow with the Periflux 5000 system at basal temperature (I. at 32°C, 5 minutes), and after heating to 42°C (II.), then to 44°C (III.) in our patient (left panel). The blue trace shows the perfusion measured in arbitrary units by the equipment (PU: perfusion unit), the red trace shows the temperature of the probe, and the red arrows on the top indicate the time points of heating. For comparison, the right panel shows the heat-induced perfusion increase of a healthy child. Note that the PU scale is set differently due to the severely reduced perfusion of the patient.

On the basis of clinical examination and laboratory test results, we reasonably suspected that the girl had acrocyanosis precipitated by cold agglutinin secondary to *Mycoplasma pneumoniae* infection. Autoimmune disorders and drug-induced acrocyanosis were ruled out on the basis of medical history and laboratory test results.

The patient was treated for 2 weeks with oral clarithromycin and intravenous pentoxyphyline infusions (200 mg/dose) three times a week in the beginning. No adverse events occurred during pentoxyphyline treatment. After the first 3 months of therapy, the frequency of infusions was set to every 2-3 weeks according to the improving clinical signs and continued for 12 months every three weeks. No plasma exchange therapy was needed. The patient was advised to avoid cold temperatures and keep her peripheries warm, eg, by wearing gloves. There were no problems with adherence to medical advice.

Since the symptoms persisted for over two months after the first admission, we decided to use two non-invasive methods to determine the viability of tissues, the degree of tissue perfusion impairment, and the responsiveness of the microvasculature.

Periflux 5000 system (Perimed AB, Stockholm, Sweden) uses the Laser Doppler Flowmetry (LDF) technology for perfusion measurement. A thermostatic Laser Doppler probe was placed on the distal phalanx of the second finger of the right hand to measure the effect of local heating on skin microcirculation (42°C for 15 minutes then to 44°C for 5 minutes). Severely reduced basal blood flow was detected on the affected fingers with delayed vasodilatation after local heating (Table 2, Figure 2).

The Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA) technology used by the PeriCam PSI equipment (Perimed AB, Stockholm, Sweden) allows real-time cutaneous perfusion imaging of larger body parts in several regions of interest (ROIs) simultaneously. This measurement also showed reduced

TABLE 3. Mean perfusion values of entire regions of interest (ROI) of equal size representing each fingertip before and 1 hour after intravenous pentoxyphyline treatment (200 mg) with the PeriCam PSI System

	Mean perfusion (arbitrary units)		
ROI	before pentoxyphyline	after pentoxyphyline	Increase (%)
1st finger	122.80	212.39	73.0
2nd finger	67.49	135.78	101.2
3rd finger	62.73	132.73	111.6
4th finger	104.19	149.49	43.5
5th finger	69.96	139.38	99.2
Dorsum of the hand	49.68	56.30	13.3

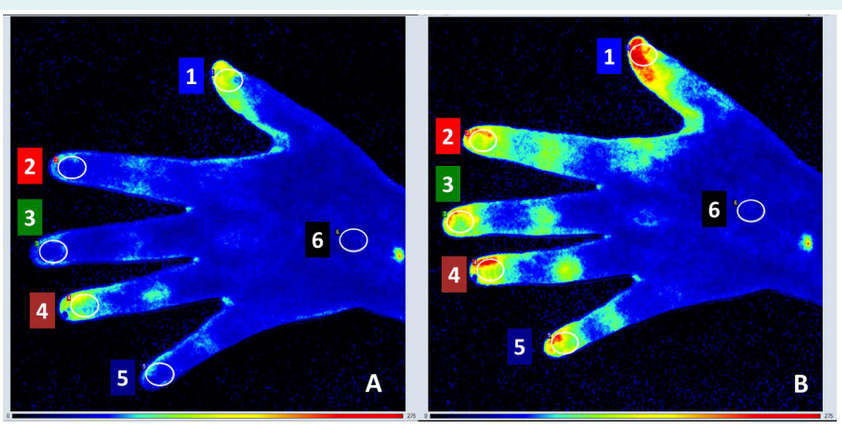


FIGURE 3. Representative images of Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA) measurements. **A.** LASCA measurements performed on the left hand before pentoxyphyline infusion (200 mg IV) with the PeriCam PSI System. **B.** LASCA measurements performed on the left hand 1 hour after intravenous pentoxyphyline infusion (200 mg) with the PeriCam PSI System. The perfusion is measured in arbitrary perfusion units (PU) by the equipment and imaged on a color scale. Higher numbers and yellow-red color shades represent higher perfusion values. Equal-sized regions of interests (ROIs) were selected on each finger and on the dorsal side of the hand. The ROI outlines were enhanced and enlarged number legends for ROIs were added during image post-processing to allow visibility for publication.

TABLE 4. Timeline of patient's signs and symptoms and treatment

Date	Signs and symptoms
November 10, 2014	Subfebrility, cough - amoxicillin-clavulanate antibiotic and fluticasone propionate, salbutamol inhalation treatments
November 17, 2014	Painful, bluish discoloration of fingers
November 24, 2014 admission to hospital	Severe acrocyanosis with cutaneous necrosis of the digital phalanx of the fourth finger, pneumonia l.d. – clarithromycin and pentoxyphyline treatment
second week of hospitalization	Systemic autoimmune diseases were ruled out, serological test suggested recent *Mycoplasma pneumoniae* infection
January 2015	LDF and LASCA methods
May 2015	The patient had mild symptoms, the laboratory parameters returned to reference ranges
February 2016	Last pentoxyphyline infusion
March 2016	No symptoms of vascular disease

perfusion in the acral regions and a significant perfusion increase in response to an acute 2-h-long pentoxyphyline infusion (200 mg) 1 hour after finishing the treatment (Table 3, Figure 3).

At the follow-up visit after 6 months, the patient had mild symptoms, and the laboratory parameters returned to reference ranges. So far, she has not received any treatment for one and a half years or had any symptoms of vascular disease (Table 4).

DISCUSSION

This is the first report describing a pediatric case of cold agglutinin-induced acrocyanosis after Mycoplasma infection without any other severe symptoms and laboratory alterations. The diagnosis of severe forms of acrocyanosis is generally challenging and it can take weeks to identify the background of the diagnosis. Therefore, we used LDF and LASCA techniques as non-invasive investigational tools to assess and quantify the severity of the perfusion disturbances and monitor the effectiveness of the treatment. However, there was no long-term follow-up of the microcirculatory changes and vascular responsiveness after complete remission of the symptoms.

Severe acrocyanosis with cutaneous necrosis rarely occurs in children and it is mostly reported in association with systemic autoimmune disorders, such as systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, infection-induced cold agglutinin disease, and drug-induced acrocyanosis (1,2,6). We excluded the presence of autoimmune diseases on the basis of the laboratory tests. Psychomotor stimulants used for attention-deficit/hyperactivity disorder could also provoke acrocyanosis, but this patient was not treated with this type of drugs. The most likely cause of severe acrocyanosis was infection-induced cold agglutinin disease, which was supported by the respiratory infection two weeks earlier, the detectable cold-agglutinin at room-temperature, and the positive serological assay for *M. pneumoniae* infection.

Cold agglutinin disease accounts for about 10%-20% of all autoimmune hemolytic anemias. While idiopathic and secondary malignant disorders affect elderly people, the secondary post-infectious CAS is seen in adolescents, young adults and sometimes in children, especially in those with chickenpox (3,7-10). Despite the high incidence of infections that induce cold agglutinins, the titer and thermal amplitude of the antibodies are only rarely present in the pathologic range; therefore, these infections are seldom complicated with CAS. Symptomatic CAS mostly co-occurs with acute hemolysis in *M. pneumoniae* infections when the patient is recovering from the pneumonia, in parallel with peak titers of cold agglutinins. The antibody occurs 2 weeks after the onset of the primary infection, reaches peak titer quickly, and may persist for 3-4 months. Hemolysis is self-limited, lasting for 1 to 3 weeks (4,7,11,12). However, in our patient, CAS manifested without hemolysis. Acrocyanosis of the fingers, toes, nose, and ears is caused by erythrocyte sludging in the microvasculature, but ulceration and necrosis are uncommon. Other findings are variable and depend on the underlying disease (3,4,13,14). Less commonly, other viral or bacterial pathogens, such as cytomegalovirus, influenza virus, varicella virus, Legionella, Citrobacter, and some strains of *Listeria monocytogenes* can also induce oligoclonal cold agglutinin production (8-11,15).

The disease variability depends on several pathophysiologic factors (16). IgM weakly binds to the polysaccharide antigen at ambient temperature, but the higher the ther-

mal amplitude of the antibodies, the greater the possibility of reaching the critical temperature at the periphery. Although the thermal range is the most important factor, the clinical manifestation of cold agglutinins in these infections is invariably associated with elevated titers ranging between 512 and 32 000 (3). Another factor is the capability of the IgM to fix complement. Since phagocytic cells do not have IgM receptors, red blood cell destruction is complement-mediated. Some cold agglutinins do not fix complement and patients with such antibodies may have severe agglutination symptoms (acrocyanosis) without hemolysis (17-20).

We demonstrated the severely impaired perfusion of the patient's fingers with two non-invasive techniques, the LDF and LASCA. Both microcirculation measurement techniques rely on the analysis of reflected light from moving red blood cells and the calculated perfusion unit is proportional to the number and velocity of circulating red blood cells in the examined tissue. While LDF is often used for the diagnosis and follow-up of peripheral vascular diseases, such as diabetic microangiopathy, atherosclerosis, wound healing after burns, or reconstructive surgery in adults (21-24), LASCA is a novel technique for the study of microcirculation without any routine applications in the clinics (25-27). Neither of the methods has been used in the pediatric practice. In the present case, we demonstrated the usefulness of both methods. Impaired perfusion was reliably detected by both LDF and LASCA. In addition, it was revealed that the heat-induced hyperemic response was diminished and improved microcirculation of the acral regions after pentoxyphyline infusion was sensitively measured by the LASCA imaging method.

The primary take-away lesson in this case is that if a child presents with atypical Raynaud's-like symptoms, it should alert the clinician to suspect cold agglutinin disease. Cold agglutinin-induced acrocyanosis after Mycoplasma infection can develop in children without hemolysis.

Acknowledgment The authors wish to thank the nurses who participated in the assessment and treatment of the patient. This work is dedicated to the 650th anniversary of the University of Pécs and was supported by "Stay Alive" GINOP-2.3.2.-15-2016-00048 grant.

Funding None disclosed.

Ethical approval was not required. The patient's parents gave a written informed consent to write this case report.

Declaration of authorship BM and ZN participated in the diagnosis and treatment of the patient, AN, KB, and ZH participated in the perfusion measurements and in the analysis of data. BM, ZN, KB, ZH, and TD drafted the manuscript. ZH and KB supervised the work. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Competing interests All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.

References

1 Heidrich H. Functional vascular diseases: Raynaud's syndrome, acrocyanosis and erythromelalgia. Vasa. 2010;39:33-41. Medline:20186674 doi:10.1024/0301-1526/a000003

2 Läuchli S, Widmer L, Lautenschlager S. Cold agglutinin disease-the importance of cutaneous signs. Dermatology. 2001;202:356-8. Medline:11455160 doi:10.1159/000051682

3 McNicholl FP. Clinical syndromes associated with cold agglutinins. Transfus Sci. 2000;22:125-33. Medline:10771401 doi:10.1016/S0955-3886(00)00033-3

4 Berentsen S, Tjřnnfjord GE. Diagnosis and treatment of cold agglutinin mediated autoimmune hemolytic anemia. Blood Rev. 2012;26:107-15. Medline:22330255 doi:10.1016/j.blre.2012.01.002

5 Sinha A, Richardson G, Patel RT. Cold agglutinin related acrocyanosis and paroxysmal haemolysis. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2005;30:563-5. Medline:16023873 doi:10.1016/j.ejvs.2005.05.031

6 Coulombe J, Powell J, Hatami A, McCuaig C, Renet S, Marcoux D. Diseases of abnormal sensitivity to cold in children on psychostimulant drugs. J Cutan Med Surg. 2015;19:121-4. Medline:25775630 doi:10.2310/7750.2014.14052

7 Petz LD. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. Blood Rev. 2008;22:1-15. Medline:17904258 doi:10.1016/j.blre.2007.08.002

8 Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease. Blood. 2013;122:1114-21. Medline:23757733 doi:10.1182/blood-2013-02-474437

9 Karunarathne S, Weerasinghe S, Govindapala D, Fernando H, Jayaratne B. Cold autoimmune haemolytic anaemia secondary to Epstein Barr virus infection presenting with peripheral gangrene; case report. Thromb J. 2012;10:4. Medline:22513360 doi:10.1186/1477-9560-10-4

10 Harel L, Straussberg R, Rudich H, Cohen AH, Amir J. Raynaud's phenomenon as a manifestation of parvovirus B19 infection: case reports and review of parvovirus B19 rheumatic and vasculitic syndromes. Clin Infect Dis. 2000;30:500-3. Medline:10722434 doi:10.1086/313712

11 Hamblin T. Management of cold agglutination syndrome. Transfus Sci. 2000;22:121-4. Medline:10771400 doi:10.1016/S0955-3886(00)00032-1

12 Packman CH. The Clinical Pictures of Autoimmune Hemolytic Anemia. Transfus Med Hemother. 2015;42:317-24. Medline:26696800 doi:10.1159/000440656

13 Nydegger UE, Kazatchkine MD, Miescher PA. Immunopathologic

and clinical features of hemolytic anemia due to cold agglutinins. Semin Hematol. 1991;28:66-77. Medline:1708169

14 Jacobson LB, Longstreth GF, Edgington TS. Clinical and immunologic features of transient cold agglutinin-hemolytic anemia. Am J Med. 1973;54:514-21. Medline:4633107 doi:10.1016/0002-9343(73)90047-8

15 Luzuriaga K, Sullivan JL. Infectious mononucleosis. N Engl J Med. 2010;362:1993-2000. Medline:20505178 doi:10.1056/NEJMcp1001116

16 Rosse WF, Adams JP. The variability of hemolysis in the cold agglutinin syndrome. Blood. 1980;56:409-16. Medline:7407408

17 Zilow G, Kirschfink M, Roelcke D. Red cell destruction in cold agglutinin disease. Infusionsther Transfusionsmed. 1994;21:410-5. Medline:7873920

18 Kirschfink M, Knoblauch K, Roelcke D. Activation of complement by cold agglutinins. Infusionsther Transfusionsmed. 1994;21:405-9. Medline:7873919

19 Jaffe CJ, Atkinson JP, Frank MM. The role of complement in the clearance of cold agglutinin-sensitized erythrocytes in man. J Clin Invest. 1976;58:942-9. Medline:965497 doi:10.1172/JCI108547

20 Atkinson JP, Frank MM. Studies on the in vivo effects of antibody. Interaction of IgM antibody and complement in the immune clearance and destruction of erythrocytes in man. J Clin Invest. 1974;54:339-48. Medline:4847248 doi:10.1172/JCI107769

21 Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL. Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. Microvasc Res. 2010;79:102-8. Medline:20064535 doi:10.1016/j.mvr.2010.01.001

22 Jaskille AD, Ramella-Roman JC, Shupp JW, Jordan MH, Jeng JC. Critical review of burn depth assessment techniques: part II. Review of laser doppler technology. J Burn Care Res. 2010;31:151-7. Medline:20061851 doi:10.1097/BCR.0b013e3181c7ed60

23 Skrha J, Prázný M, Haas T, Kvasnicka J, Kalvodová B. Comparison of laser-Doppler flowmetry with biochemical indicators of endothelial dysfunction related to early microangiopathy in Type 1 diabetic patients. J Diabetes Complications. 2001;15:234-40. Medline:11522496 doi:10.1016/S1056-8727(01)00152-0

24 Hu C-L, Lin Z-S, Chen Y-Y, Lin Y-H, Lai M-F, Li M-L. Application of the laser Doppler flowmeter for measurement of blood pressure and functional parameters of microcirculation. Biomed Mater Eng. 2012;22:351-9. Medline:23114464

25 Ruaro B, Sulli A, Pizzorni C, Paolino S, Smith V, Alessandri E, et al. Correlations between blood perfusion and dermal thickness in different skin areas of systemic sclerosis patients. Microvasc Res. 2018;115:28-33. Medline:28834709 doi:10.1016/j.mvr.2017.08.004

26 Krezdorn N, Limbourg A, Paprottka FJ. Könneker, Ipaktchi R, Vogt PM. Assessing burn depth in tattooed burn lesions with LASCA Imaging. Ann Burns Fire Disasters. 2016;29:223-7. Medline:28149254

27 Sandker SC. Hondebrink E, Grandjean JG, Steenbergen W. Laser speckle contrast analysis for quantifying the Allen test: a feasibility study. Lasers Surg Med. 2014;46:186-92. Medline:24302298 doi:10.1002/lsm.22213

Mosdósi et al. Pediatric Rheumatology (2018) 16:20
https://doi.org/10.1186/s12969-018-0237-x

Pediatric Rheumatology

RESEARCH ARTICLE Open Access

Impairment of microcirculation and vascular responsiveness in adolescents with primary Raynaud phenomenon

Bernadett Mosdósi[1*], Kata Bölcskei[2,3] and Zsuzsanna Helyes[2,3]

Abstract

Background : Raynaud's phenomenon (RP) is a functional vascular disease, presenting with recurrent episodes of ischemia of extremities in response to cold and emotional stress. Investigating cutaneous microcirculation is an important tool in understanding the complex neuro-immuno-vascular interactions in its pathophysiological mechanisms. Since there is no available data on vascular responsiveness in RP in the paediatric population, we investigated skin perfusion and heat-induced hyperaemia in comparison with clinical severity and laboratory parameters of the disease.

Methods: Fifty two adolescents (27 patients with primary RP and 25 age-matched healthy controls) were investigated in the study. Patients were divided into two groups according to the symptoms existing within the previous 2 months. Following baseline microcirculation measurement with Laser Doppler flowmetry (Periflux 5000 system), all subjects underwent local heating test at 42 °C and 44 °C. Besides routine laboratory parameters, immune-serological tests and the vasoactive sensory neuropeptides somatostatin and pituitary adenylate-cyclase activating polypeptide (PACAP) were measured.

Results: Baseline perfusion measured in perfusion units (PU) at 32 °C was significantly lower in symptomatic RP patients (97.6 ± 22.4 PU) compared with both healthy volunteers (248.3 ± 23.5 PU, $p < 0.001$) and RP patients without symptoms (187.4 ± 24.9 PU, $p < 0.05$). After local heating to 42 °C maximum blood flow was significantly reduced in primary RP participants with current symptoms (358.6 ± 43.9 PU, $p < 0.001$), but not in asymptomatic ones (482.3 ± 28.7 PU, $p > 0.05$) when compared with healthy subjects (555.9 ± 28.2 PU). Both the area under the response curve and the latency to reach the maximum flow were significantly increased in both RP groups (symptomatic 164.6 ± 7.4 s, $p < 0.001$, asymptomatic 236.4 ± 17.4 s, $p < 0.001$) when compared with the control group (101.9 ± 4.7 s). The heat-induced percentage increase from baseline to maximal blood flow was significantly greater in symptomatic RP adolescents in comparison with healthy ones. Laboratory parameters and neuropeptide plasma levels were not altered in any groups.

Conclusion: To our knowledge this is the first study in paediatric population to show altered heat-induced cutaneous hyperaemia responses in relation with the clinical severity and symptomatology.

Keywords: Primary Raynaud phenomenon, Adolescents, Microcirculation, Laser Doppler, Local hyperaemia

* Correspondence: mosdosi.bernadett@pte.hu
[1]Clinical Center, Department of Pediatrics, University of Pécs, József Attila u. 7, Pécs H-7623, Hungary
Full list of author information is available at the end of the article

© The Author(s). 2018 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Background

Raynaud phenomenon (RP), first described by Maurice Raynaud in 1862 [1], is defined as recurrent, reversible episodes of vasospasm involving peripheral small vessels. The fingers are the most commonly affected regions and RP is typically triggered by cold exposure, emotional stress and exercise [2]. The phenomenon is manifested clinically by sharply demarcated colour changes of the skin of the digits, and can be classified as primary and secondary. Primary RP accounting for 80% of the cases is present without any associated diseases explaining the symptoms [3]. Secondary RP is associated with other conditions, mainly connective tissue diseases (CTD), endocrine and hyperviscosity disorders, as well as drug exposure. It commonly occurs (80–90%) in children with systemic sclerosis (SSc) and CTD. The differentiation between the two forms is important, because primary RP has good outcome, but careful monitoring is essential to ensure early detection and management of evolving CTD [4–6].

The prevalence of RP is more common among women and family members of RP patients [7], it is approximately 3–20% in the total population [2, 3, 8]. However, the pediatric prevalence is not well known. A study of 720 school-children at the age of 12–15 years in the UK reported a prevalence of 18% in females and 12% of males [9].

Cutaneous blood flow is regulated by complex neuro-immune-humoral mechanisms, involving both the autonomic and sensory nervous systems. Mediators are hormones and vasoactive compounds released from nerves, circulating cells and blood vessels. The pathophysiology of RP is poorly understood, but the key mechanism is related to the imbalance between vasoconstrictor and vasodilator events. A complex disorder of several neuroendocrine interactions and local production of reactive oxygen species resulting in decreased nitric oxide (NO) production lead to intensified vasoconstriction [8, 10–13]. Sensory nerves play a predominant role in the regulation of vascular responses elicited by thermal stimuli. Peptide mediators released from autonomic or sensory nerve endings, such as calcitonin gene related peptide (CGRP) [14], vasoactive intestinal peptide (VIP) or the closely related pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) [15, 16] dilate the vessels by directly relaxing the vascular smooth muscle and indirectly via the endothelial release of NO [12]. Indeed, reduction of CGRP- and VIP-positive nerves in the skin of adult RP patients has been described [17, 18]. On the other hand, it is well known that secondary RP in SSc is also caused by structural microvascular changes, such as endothelial dysfunction and fibrous intimal proliferation with associated intravascular thrombi [19].

In order to get closer to the pathophysiological mechanisms, it is important to investigate cutaneous microvascular function in RP. Skin microcirculation can be examined by both non-invasive [20–22] and invasive techniques, such as biopsies [17] or intradermal delivery of drugs [23]. Laser Doppler flowmetry is a sensitive, non-invasive method for the measurement of tissue perfusion. The monochromatic laser beam penetrates the skin, it is reflected depending on the movement velocity of the red blood cells and recorded by a sensitive sensor. Cold stimulation-induced skin blood flow responses were found to be unaltered in adult RP and SSc patients, as compared to healthy subjects [24]. Meanwhile, several other studies in adults showed a dramatic alteration of the amplitude and the kinetics of post-occlusive hyperaemia in patient with SSc compared to primary RP and healthy controls [25, 26]. However, thermal hyperaemia was more sensitive and specific than post-occlusive hyperaemia for differentiating SSc from primary RP [27]. All these data clearly show that investigating vascular responsiveness in the skin, with special emphasis on heat-induced vasodilatation is a valuable tool to understand the pathophysiological background of RP, but there are no data in paediatric population.

Therefore, the aim of the present study was to investigate cutaneous microcirculatory alterations in RP adolescents and analyse the heat-induced microvascular responsiveness in relation to the clinical symptoms.

Methods

Patient selection and ethics

Fifty-two adolescents were enrolled in this study at the Department of Pediatrics of the Clinical Centre of the University of Pécs, Hungary in March and April of 2015.

Primary RP was diagnosed according to the criteria of LeRoy [28], including a normal nail-fold capillaroscopy (characterized by homogeneous distribution of capillary loops similar in shape and size), the lack of antinuclear antibodies, no digital pitting scar and the lack of clinical symptoms of CTD. Exclusion criteria were cigarette smoking, chronic diseases such as CTD, diabetes mellitus, hypercholesterolemia, hypertonia and any drug therapy. Two eligible RP participants were later also excluded from the study due to difficulties with the microcirculation measurement analysis.

Healthy adolescents were recruited through letters sent to the local secondary schools. Overall, there were 27 patients with primary Raynaud syndrome and 25 age- and gender-matched healthy controls.

The study was performed according to the recommendations of the Declaration of Helsinki and the protocol was approved by the Local Ethics Committee (5501/2015). Informed consent was obtained from all adolescents and their parents.

Measurement protocol and paradigm

On the day of the investigation, the participants arrived at the department between 7:30 a.m. and 9 a.m. in the fasting state. Measurements were performed within one day in a quiet room at 23.0 ± 0.5 °C temperature. After a thorough physical examination, body composition analysis was done with Tanita BC 420 MA Body Composition Analyser [29]. Afterwards, subjects were placed in a supine position with both forearms resting at heart level. Five minutes later, heart rate and blood pressure were measured.

Venous blood samples were taken for routine laboratory tests including haematocrit (Htc), haemoglobin (Hgb), white blood cell count (WBC), platelet count, differential blood smear, erythrocyte sedimentation rate (ESR), C- reactive protein (CRP), liver and kidney function, thyroid stimulating hormone (TSH), coagulation tests, immunoglobulin and complements (C3,C4). Immunoserological tests included the measurements of antinuclear (ANA), anti-dsDNA, anti-centromere (ACA), anti-C1Q, anti-extractable nuclear antibody (ENA), anticardiolipin and anti-beta 2 glycoprotein, antiprothrombin antibody levels. Routine urine analysis was also performed. Blood samples were also collected for measuring vasoactive sensory neuropeptides, such as PACAP-38 and somatostatin by specific and sensitive radioimmunoassay (RIA) techniques developed in our laboratory [30, 31]. Peptidase inhibitor aprotinin (200 IU per ml of blood; Gordox, Gedeon Richter, Budapest) was added immediately to the blood taken into EDTA tubes. Plasma was obtained by centrifugation of whole blood at 4 °C degree 1000 g for 4 min and then 4000 g for 15 min and aliquots were stored at −70 °C.

The participants were resting comfortably for 5 min and their arms were immobilised to ensure stable positioning. Microcirculation on the left index finger was measured with the Periflux 5000 system (Perimed AB, Stockholm, Sweden) Laser Doppler technology. A thermostatic Laser Doppler probe (Probe 457) was placed on the distal phalanx of the second finger of the left hand. Data from the Laser Doppler flowmeter were interfaced to a computer, the perfusion measured in arbitrary perfusion units (PU) and the kinetics of the response was determined by the time. Baseline mean temperature was maintained at 32 °C and blood flow recorded over 5 min. The laser probe was heated to 42 °C for 10 min and then 44 °C for a period of maximum 5 min. Microcirculation parameters, such as heat-induced hyperaemia were expressed as the area under the response curve (AUC), time to peak response (the time to attain maximal cutaneous perfusion in seconds), peak perfusion value and percentage increase (Fig. 1). The cooling test could not be performed because of the symptoms of RP patients.

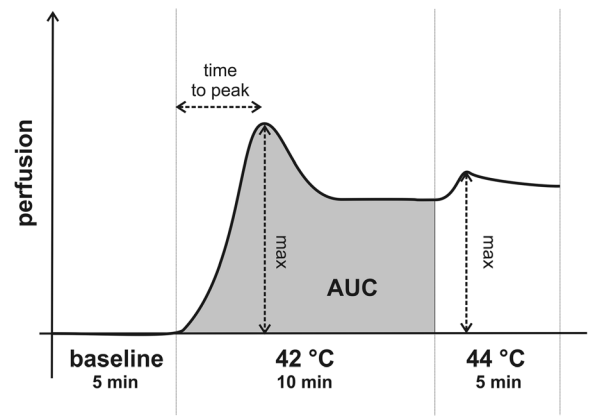


Fig. 1 Cutaneous microcirculation changes and evaluated parameters on the left index finger in response to heating (area under the response curve: AUC)

Data analysis and statistics

Data management and analysis were performed using GraphPad Prism version 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). Values were expressed as means ± SEM in all the 3 groups of subjects. The normal distribution of investigated parameters was confirmed by D'Agostino-Pearson and Shapiro-Wilk normality tests. In case of normal distribution, values for each group were compared by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Newman-Keuls multiple comparison test. Otherwise, the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparison test was used for statistical analysis. A value of $p < 0.05$ was considered as statistically significant. Correlation coefficients between selected clinical and microcirculation parameters were also analysed.

Results

Clinical and laboratory characteristics of the patients

The demographics and clinical characteristics of the 52 adolescents investigated in the study are listed in Table 1. Patients with Raynaud symptoms were divided into two groups according to the symptoms existing on the day of the study or in the past 2 months. Four of the participants included in the control group were diagnosed based on medical history and physical examination with primary RP and were therefore switched to the group of Raynaud patients without current symptoms. Only one of the patients without current symptoms of RP had Tanner stage III, all the rest had Tanner stage IV.

Most patients except one in each group among the Raynaud patients were girls. The mean duration of primary RP was 23.2 ± 4.9 months in the group of Raynaud without symptoms and 38.4 ± 6.9 months in the group of Raynaud with symptoms, the difference, however, was not statistically significant. Compared to healthy controls body fat percentage values were significantly higher in

Table 1 Demographic and clinical characteristics of adolescents involved in the study

	Healthy	Raynaud without current symptoms	Raynaud with current symptoms
Number	25	15	12
Age (years)	16.5 ± 0.2 (14.8–19)	16.6 ± 0.4 (13.2–18.2)	16.2 ± 0.4 (13–18)
Duration of the disease (months)	–	23.2 ± 4.9 (2.4–54)	38.4 ± 6.9 (12–96)
Body fat composition (%)	24.0 ± 1.5 (4.3–41.8)	32.1 ± 2.7 (17.8–50.6)**	18.1 ± 1.7 (8.2–27.4)*, ###
Body Mass Index (BMI)	22.0 ± 0.8 (17.3–35.1)	25.8 ± 1.9 (17.6–39.5)	18.78 ± 0.4 (15.8–20.8) *, ##
Mean arterial blood pressure (mmHg)	87.5 ± 1.7 (73.3–107.0)	90.1 ± 1.6 (82–101.3)	81.7 ± 2.1 (71.7–97.0)*, #

Data represent the means±SEM, as well as the range of the data in each group (*$p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. healthy; #$p < 0.05$, ##$p<0.01$, ###$p < 0.001$ vs. patients without current symptoms, Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparison test for body mass index values, one-way ANOVA followed by Neuman-Keuls multiple comparison test for all other parameters)

Raynaud children without symptoms and significantly lower in symptomatic patients compared to controls. BMI was also significantly lower in symptomatic patients compared to either healthy controls or patients with symptoms. In the group of RP with symptoms 1 person was found to be severely underweight, and 3 were underweight but none of the patients were anorectic. At the same time in the group of RP without symptoms only one patient was underweight, however four of them were obese. The difference in BMI was highly significant between the two patient groups, as well.

The mean arterial blood pressure was also lower in Raynaud patients with symptoms compared with either healthy or asymptomatic patients (Table 1). Participants were asked to rate their symptoms based on numbness, pain, and the frequency and duration of attacks. Patient-reported subjective symptom severity was moderate to severe. Ischemic ulcerations were not observed in any cases at the time of the study. The history and clinical examination did not show any signs of CTD. The laboratory parameters were in the normal range in all subjects. None of them had positive autoantibodies against nuclear (ANA), topoisomerase I (SCL-70) or centromere-associated (ACA) proteins.

Nail-fold capillaroscopy did not show scleroderma pattern characterized by enlarged capillaries, giant capillaries, haemorrhages, or loss of capillaries, disorganization of capillaries architecture in any of the subjects. We only found non-specific patterns, minor capillary morphological changes (mean disarrangement of capillary density and capillary polarity, nonhomogeneous distribution or size of loops, linear elongation of the loop) which can even be found in primary RP patients and they are not considered pathological.

Disease activity-relation of microcirculatory impairment in adolescents with Raynaud phenomenon

Baseline perfusion at 32 °C was 97.6 ± 22.4 perfusion units (PU) in symptomatic Raynaud patients which was significantly lower compared with either healthy volunteers (248.3 ± 23.5 PU, $p < 0.001$) or patients without symptoms (187.4 ± 27.9 PU, $p < 0.05$). The difference between healthy controls and asymptomatic participants was not statistically significant. (Fig. 2a). Heating to 42 °C and 44 °C induced a gradual increase in cutaneous blood flow. The maximum blood flow at 42 °C was significantly reduced in RP adolescents with current symptoms (358.6 ± 43.9 PU), compared with healthy subjects (555.9 ± 8.2 PU, $p < 0.05$). However, there was no significant difference in this response parameter between healthy controls and patients without symptoms (482.3 ± 28.7 PU) or between the two Raynaud groups (Fig. 2b). Analysing the percentage changes from baseline to maximal flow during heating to 42 °C, significantly greater increase was detected in symptomatic RP adolescents (452.9 ± 93.4%) compared with either the controls (185.1 ± 42.5%, $p < 0.01$), or the asymptomatic RP patients (241.7 ± 61.5%, $p < 0.05$). This parameter did not differ in the disease group without symptoms in comparison with healthy subjects, similarly to the absolute perfusion values (Fig. 2c). Heating to 44 °C induced perfusion changes similar to the 42 °C stimulus and statistical comparisons revealed the same differences between groups (Fig. 2b and c).

Additional analysis of the perfusion change revealed that the kinetics of the heat-induced response was also altered in patients with RP in comparison with healthy controls. The AUC of the 42 °C heat-induced perfusion response was significantly greater in both Raynaud disease groups compared with the control group. No significant difference in AUC was found between symptomatic and asymptomatic patients (Fig. 3a).

On the other hand, latency to reach the maximum perfusion at 42 °C was significantly longer in both patient groups (symptomatic: 236.4 ± 17.4 s, asymptomatic 164.6 ± 7.4 s) compared with healthy controls (101.9 ± 4.7 s, $p < 0.001$ for both). Moreover, the latency was also significantly different between the two RP patient groups ($p < 0.001$, Fig. 3b).

Correlations between microcirculatory parameters and mean blood pressure or body fat percentage or disease duration were analysed, but no significant relationships were detected (data not shown).

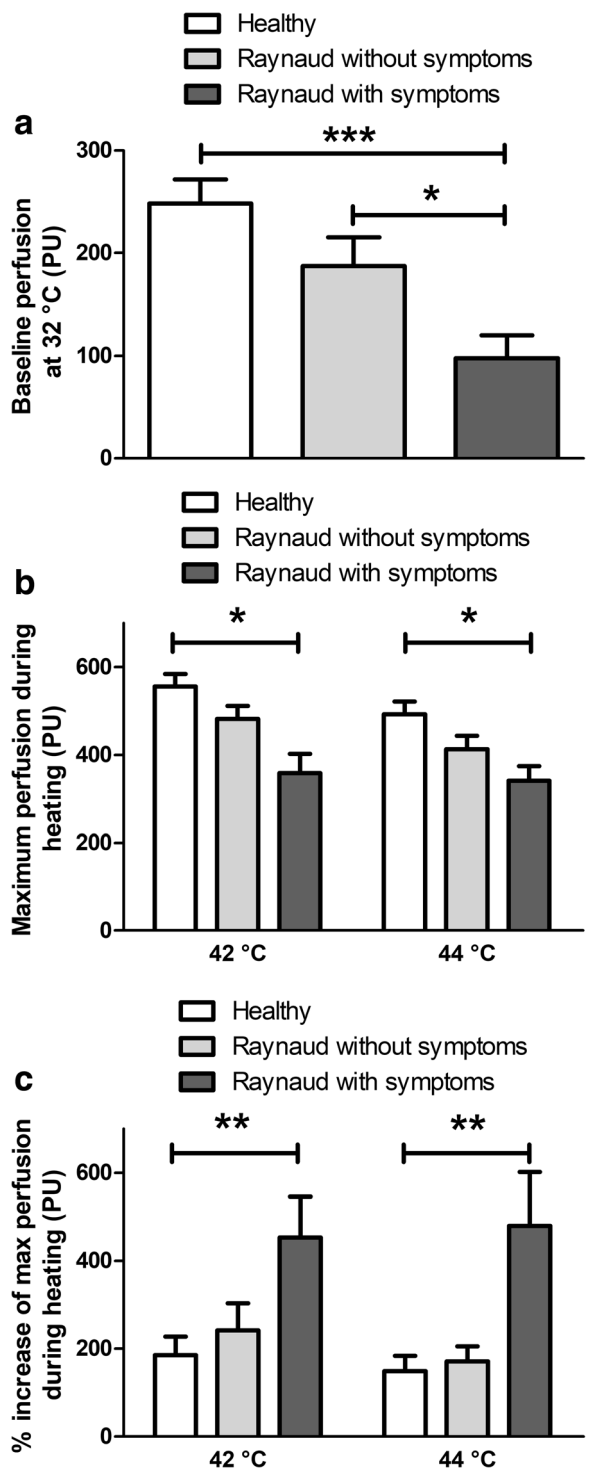


Fig. 2 Baseline perfusion (**a**) demonstrated as perfusion units (PU), maximum perfusion in response to heating to 42 °C and 44 °C (**b**), percentage perfusion increase during heating (**c**). Columns represent the means±SEM of each group (*$p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ***$p < 0.001$; one-way ANOVA followed by Neuman-Keuls multiple comparison test)

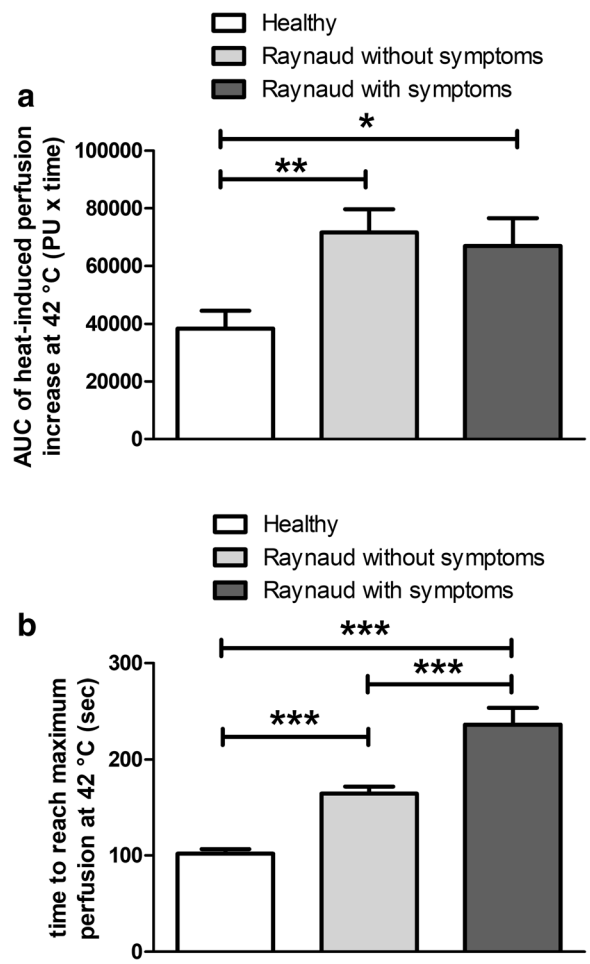


Fig. 3 Heat-induced hyperaemia response (**a**), and (**b**) latency to reach the maximal response. Columns represent the means±SEM of each group (*$p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ***$p < 0.001$; one-way ANOVA followed by Neuman-Keuls multiple comparison test)

Plasma concentrations of vasoactive sensory neuropeptides were not altered in primary Raynaud adolescents. PACAP-38 and somatostatin-LI were reliably measurable in the systemic circulation, however there were no significant differences between their concentrations in the three groups (Table 2.).

Discussion

To our knowledge this is the first study in a paediatric primary RP population to show altered heat-induced cutaneous hyperaemia responses in relation with the clinical severity and symptomatology.

Detection of tissue perfusion dysfunction is necessary for the early diagnosis of microvascular disease. Laser Doppler flowmetry has been proven to be a valuable non-invasive method for the diagnosis and follow-up of peripheral vascular diseases such as diabetic microangiopathy, atherosclerosis, and wound healing after burns

Table 2 Plasma somatostatin (SOM) and pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-38 (PACAP-38) levels determined by radioimmunoassay in healthy controls and Raynaud patients with or without symptoms. Data represent the means±SEM of each group

	Healthy	Raynaud without symptoms	Raynaud with symptoms
Somatostatin (fmol/ml)	4.9 ± 0.3	4.9 ± 0.4	5.6 ± 0.5
PACAP-38 (fmol/ml)	15.8 ± 1.6	15.2 ± 1.5	13.1 ± 1.4

or reconstructive surgery [32–35]. Since baseline perfusion values depend on a variety of exogenous and endogenous factors, the results of provocation tests (pressure, heat, cold or chemical stimulation) should be used for reliable comparison. Local heat-induced skin hyperaemia is based on two separate mechanisms: a sensory nerve-mediated initial peak and a sustained plateau phase dependent on endothelial factors, mostly NO [36, 37]. Previous studies in the adult primary RP population showed that the initial neurogenic vasodilator response to heating was not affected by the disease [27, 38]. Few capillary microscopy studies have investigated the vasculature in RP children, but none of them described functional investigations of responsiveness to heat [39, 40].

Similarly to previous adult studies we also found significantly decreased baseline blood flow in primary RP adolescents, but only in the symptomatic group [41, 42]. This can be partially explained by the higher body weight and fat percentage in the population of asymptomatic RP, since BMI has an impact on the regulation of skin temperature and perfusion. It has been demonstrated that weight could have an impact on sympathetic nerve–dependent regulation of vascular tone [43] and studies in obese children also reported increased skin perfusion [44, 45]. Furthermore, BMI was shown to be related to skin temperature and skin perfusion in adult patients with primary RP, but not in healthy controls [46].

We showed that both the kinetics and amplitude of the hyperaemic response to local heating were altered in RP in comparison with healthy participants. It should be emphasized that the kinetics of the thermal response could distinguish between symptomatic and asymptomatic RP children. Peak perfusion values during heating were significantly lower and responses were significantly delayed in symptomatic primary RP adolescents. These findings are fundamentally different from the results reported in adult primary RP patients [27]. Unexpectedly, the percentage increase above baseline, as well as the AUC values were significantly higher in the symptomatic group compared to healthy controls. It might suggest a functional reserve capacity of the microvasculature in these patients. The higher relative increase might be explained by a greater sensitivity of RP patients to intravenous CGRP, as described in adults [47], although this finding was not confirmed by others [48, 49]. In contrast, no difference was observed in the maximum perfusion or in the percentage increase between asymptomatic RP patients and controls. However, the AUC and latency to reach the maximum perfusion were significantly higher, demonstrating an overall difference between asymptomatic primary RP and healthy adolescents. The most sensitive parameter proved to be the latency value, since it could differentiate between the three study groups. In adults the response to local heating was described as a characteristic to distinguish secondary RP patients from primary ones [27], but to our knowledge, ours were the first to use Laser Doppler flowmetry as a tool to detect the disease severity in the paediatric RP population.

A complex interplay of several neuroendocrine mechanisms with local pathways is present in RP and CTD. The pathophysiology of primary RP is multifactorial with both vascular and neural abnormalities. The loss of CGRP- and VIP-containing nerves in the cutaneous microvasculature [17, 18] and abnormal response of cold-sensitive nerves were described in primary adult RP patients [50]. A recent study found a strong relationship between microangiopathy and higher serum endothelin-1 and E-selectin levels in children with RP [40], although previous data had not confirmed the diagnostic value of endothelin concentration [51]. It is well-established that peptide mediators play a role in neurovascular responses, but there is limited data about neuropeptide concentration changes in primary RP [12]. We found no plasma concentration alterations of vasoactive sensory neuropeptides in primary RP adolescents compared with healthy controls. The lack of systemic changes of neuropeptide levels suggests that only local neuroendocrine mechanism may be involved in a shift towards vasoconstriction.

Some potential limitations should be considered when interpreting our results. First, it was a monocentric study. The number of participants was small, but we strictly compared age and sex-matched groups to avoid possible bias in pubertal development. In order to minimize a possible bias by differences in physical examination and microcirculation measurement with Laser Doppler flowmetry, the same investigator did the procedure. A disadvantage of Laser Doppler flowmetry is the dependence of the signal of other variables such as skin thickness or temperature. Therefore, care was taken

to perform perfusion measurements at the same site under standardized, identical conditions and a preheated probe was used to standardize baseline cutaneous temperature. Despite these limitations, assessment of perfusion changes by Laser Doppler flowmetry is considered accurate and reliable for diagnostic purposes of peripheral arterial disease [52, 53].

Conclusion

To our knowledge, this is the first study in paediatric RP population to show altered heat-induced cutaneous hyperaemia responses in relation to the clinical severity and symptomatology using a sensitive, easy and non-invasive method. Since CTD develop in 3–40% of RP subjects [4–6], early detection is important for better treatment results and prognosis. Previous studies suggest that in CTD microcirculatory changes develop before morphological abnormalities are seen with nail-fold capillaroscopy [54–56]. Therefore, altered microvascular response to thermal stimuli could be an early marker, but a follow-up study is needed to determine whether this parameter could be an objective severity and prognosis indicator.

Abbreviations

AUC: Area under the curve; CGRP: Calcitonin gene-related peptide; CTD: Connective tissue disease; NO: Nitric oxide; PACAP: Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide; RP: Raynaud phenomenon; SOM: Somatostatin; SSc: Systemic sclerosis

Acknowledgements

The authors wish to thank Teréz Bagoly for performing the radioimmunoassay for neuropeptide level measurement.
This work is dedicated to the 650th anniversary of the University of Pécs.

Funding

This work was supported by National Brain Research Program 20017-1.2.1-NKP -2017-00002, "Stay Alive" GINOP-2.3.2.-15-2016-00048 and EFOP-3.6.1-16-2016-00004 grants.

Availability of data and materials

Please contact author for data requests.

Authors' contributions

BM participated in the diagnosis and treatment of the patients, BM, KB, ZH participated in the perfusion measurements and in the analysis of data. BM, KB, ZH drafted the manuscript. ZH and KB supervised the work. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by The Regional Research Ethics Committee of the Medical Center, University of Pécs (5501/2015). Written informed consents were obtained from the adolescents and their parents for the participation.

Consent for publication

Written informed consents were obtained from the patients' parents for publication of this study.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Author details

[1]Clinical Center, Department of Pediatrics, University of Pécs, József Attila u. 7, Pécs H-7623, Hungary. [2]János Szentágothai Research Centre & Centre for Neuroscience, University of Pécs, Ifjúság útja 20, Pécs H-7624, Hungary. [3]Medical School, Department of Pharmacology and Pharmacotherapy, University of Pécs, Szigeti út 12, Pécs H-7624, Hungary.

Received: 7 March 2018 Accepted: 12 March 2018
Published online: 23 March 2018

References

1. Raynaud M. De l'asphyxie locale et de la gangrène symétrique des extrémités. Leclerc L, editor. Paris: Rignoux; 1862.
2. Herrick AL. The pathogenesis, diagnosis and treatment of Raynaud phenomenon. Nat Rev Rheumatol. 2012;8:469–79.
3. Wigley FM. Clinical practice. Raynaud's phenomenon. N Engl J Med. 2002; 347:1001–8.
4. Hirschl M, Hirschl K, Lenz M, Katzenschlager R, Hutter H-P, Kundi M. Transition from primary Raynaud's phenomenon to secondary Raynaud's phenomenon identified by diagnosis of an associated disease: results of ten years of prospective surveillance. Arthritis Rheum. 2006;54:1974–81.
5. Koenig M, Joyal F, Fritzler MJ, Roussin A, Abrahamowicz M, Boire G, et al. Autoantibodies and microvascular damage are independent predictive factors for the progression of Raynaud's phenomenon to systemic sclerosis: a twenty-year prospective study of 586 patients, with validation of proposed criteria for early systemic sclerosis. Arthritis Rheum. 2008;58(12):3902.
6. Pavlov-Dolijanovic S, Damjanov NS, Stojanovic RM, Vujasinovic Stupar NZ, Stanisavljevic DM. Scleroderma pattern of nailfold capillary changes as predictive value for the development of a connective tissue disease: a follow-up study of 3,029 patients with primary Raynaud's phenomenon. Rheumatol Int. 2012;32:3039–45.
7. Suter LG, Murabito JM, Felson DT, Fraenkel L. The incidence and natural history of Raynaud's phenomenon in the community. Arthritis Rheum. 2005; 52:1259–63.
8. Herrick AL. Pathogenesis of Raynaud's phenomenon. Rheumatol Oxf Engl. 2005;44:587–96.
9. Jones GT, Herrick AL, Woodham SE, Baildam EM, Macfarlane GJ, Silman AJ. Occurrence of Raynaud's phenomenon in children ages 12-15 years: prevalence and association with other common symptoms. Arthritis Rheum. 2003;48:3518–21.
10. Cooke JP, Marshall JM. Mechanisms of Raynaud's disease. Vasc Med. 2005; 10:293–307.
11. Furspan PB, Chatterjee S, Freedman RR. Increased tyrosine phosphorylation mediates the cooling-induced contraction and increased vascular reactivity of Raynaud's disease. Arthritis Rheum. 2004;50:1578–85.
12. Fonseca C, Abraham D, Ponticos M. Neuronal regulators and vascular dysfunction in Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. Curr Vasc Pharmacol. 2009;7:34–9.
13. Flavahan NA. Pathophysiological Regulation of the Cutaneous Vascular System in Raynaud's Phenomenon. In: Wigley FM, Herrick AL, Flavahan NA, editors. Raynaud's Phenom. New York, NY: Springer; 2015. p. 57–79. [cited 2017 Jul 9] Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4939-1526-2_5.
14. Russell FA, King R, Smillie S-J, Kodji X, Brain SD. Calcitonin gene-related peptide: physiology and pathophysiology. Physiol Rev. 2014;94:1099–142.
15. Vaudry D, Gonzalez BJ, Basille M, Yon L, Fournier A, Vaudry H. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: from structure to functions. Pharmacol Rev. 2000;52:269–324.
16. Kellogg DL, Zhao JL, Wu Y, Johnson JM. VIP/PACAP receptor mediation of cutaneous active vasodilation during heat stress in humans. J Appl Physiol. 2010;109:95–100.
17. Bunker CB, Terenghi G, Springall DR, Polak JM, Dowd PM. Deficiency of calcitonin gene-related peptide in Raynaud's phenomenon. Lancet Lond Engl. 1990;336:1530–3.
18. Terenghi G, Bunker CB, Liu YF, Springall DR, Cowen T, Dowd PM, et al. Image analysis quantification of peptide-immunoreactive nerves in the skin

of patients with Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. J Pathol. 1991;164:245–52.
19. Wigley FM. Vascular disease in scleroderma. Clin Rev Allergy Immunol. 2009; 36:150–75.
20. Picart C, Carpentier PH, Brasseur S, Galliard H, Piau JM. Systemic sclerosis: blood rheometry and laser Doppler imaging of digital cutaneous microcirculation during local cold exposure. Clin Hemorheol Microcirc. 1998;18:47–58.
21. Mahé G, Humeau-Heurtier A, Durand S, Leftheriotis G, Abraham P. Assessment of skin microvascular function and dysfunction with laser speckle contrast imaging. Circ Cardiovasc Imaging. 2012;5:155–63.
22. Keymel S, Sichwardt J, Balzer J, Stegemann E, Rassaf T, Kleinbongard P, et al. Characterization of the non-invasive assessment of the cutaneous microcirculation by laser Doppler perfusion scanner. Microcirc N Y N 1994. 2010;17:358–66.
23. Cracowski J-L, Minson CT, Salvat-Melis M, Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. Trends Pharmacol Sci. 2006;27:503–8.
24. Creutzig A, Hiller S, Appiah R, Thum J, Caspary L. Nailfold capillaroscopy and laser Doppler fluxmetry for evaluation of Raynaud's phenomenon: how valid is the local cooling test? Vasa Z Gefasskrankheiten. 1997;26:205–9.
25. Wigley FM, Wise RA, Mikdashi J, Schaefer S, Spence RJ. The post-occlusive hyperemic response in patients with systemic sclerosis. Arthritis Rheum. 1990;33:1620–5.
26. Gaillard-Bigot F, Roustit M, Blaise S, Gabin M, Cracowski C, Seinturier C, et al. Abnormal amplitude and kinetics of digital postocclusive reactive hyperemia in systemic sclerosis. Microvasc Res. 2014;94:90–5.
27. Boignard A, Salvat-Melis M, Carpentier PH, Minson CT, Grange L, Duc C, et al. Local hyperhemia to heating is impaired in secondary Raynaud's phenomenon. Arthritis Res Ther. 2005;7:R1103.
28. LeRoy EC, Medsger TA. Raynaud's phenomenon: a proposal for classification. Clin Exp Rheumatol. 1992;10:485–8.
29. Lloret Linares C, Ciangura C, Bouillot J-L, Coupaye M, Declèves X, Poitou C, et al. Validity of leg-to-leg bioelectrical impedance analysis to estimate body fat in obesity. Obes Surg. 2011;21:917–23.
30. Sütő B, Bagoly T, Börzsei R, Lengl O, Szolcsányi J, Németh T, et al. Surgery and sepsis increase somatostatin-like immunoreactivity in the human plasma. Peptides. 2010;31:1208–12.
31. Tuka B, Helyes Z, Markovics A, Bagoly T, Szolcsányi J, Szabó N, et al. Alterations in PACAP-38-like immunoreactivity in the plasma during ictal and interictal periods of migraine patients. Cephalalgia Int J Headache. 2013;33:1085–95.
32. Roustit M, Maggi F, Isnard S, Hellmann M, Bakken B, Cracowski J-L. Reproducibility of a local cooling test to assess microvascular function in human skin. Microvasc Res. 2010;79:34–9.
33. Jaskille AD, Ramella-Roman JC, Shupp JW, Jordan MH, Jeng JC. Critical review of burn depth assessment techniques: part II. Review of laser doppler technology. J Burn Care Res Off Publ Am Burn Assoc. 2010;31:151–7.
34. Skrha J, Prázný M, Haas T, Kvasnicka J, Kalvodová B. Comparison of laser-Doppler flowmetry with biochemical indicators of endothelial dysfunction related to early microangiopathy in type 1 diabetic patients. J Diabetes Complicat. 2001;15:234–40.
35. Hu C-L, Lin Z-S, Chen Y-Y, Lin Y-H, Lai M-F, Li M-L. Application of the laser Doppler flowmeter for measurement of blood pressure and functional parameters of microcirculation. Biomed Mater Eng. 2012;22:351–9.
36. Minson CT, Berry LT, Joyner MJ. Nitric oxide and neurally mediated regulation of skin blood flow during local heating. J Appl Physiol Bethesda Md 1985. 2001;91:1619–26.
37. Johnson JM, Minson CT, Kellogg DL. Cutaneous vasodilator and vasoconstrictor mechanisms in temperature regulation. Compr Physiol. 2014;4:33–89.
38. Roustit M, Simmons GH, Carpentier P, Cracowski JL. Abnormal digital neurovascular response to local heating in systemic sclerosis. Rheumatol Oxf Engl. 2008;47:860–4.
39. Jayanetti S, Smith CP, Moore T, Jayson MI, Herrick AL. Thermography and nailfold capillaroscopy as noninvasive measures of circulation in children with Raynaud's phenomenon. J Rheumatol. 1998;25:997–9.
40. Latuskiewicz-Potemska J, Chmura-Skirlinska A, Gurbiel RJ, Smolewska E. Nailfold capillaroscopy assessment of microcirculation abnormalities and endothelial dysfunction in children with primary or secondary Raynaud syndrome. Clin Rheumatol. 2016;35:1993–2001.
41. Greenstein D, Gupta NK, Martin P, Walker DR, Kester RC. Impaired thermoregulation in Raynaud's phenomenon. Angiology. 1995;46:603–11.
42. Roustit M, Simmons GH, Baguet J-P, Carpentier P, Cracowski J-L. Discrepancy between simultaneous digital skin microvascular and brachial artery macrovascular post-occlusive hyperemia in systemic sclerosis. J Rheumatol. 2008;35:1576–83.
43. Bemelmans RHH, van der Graaf Y, Nathoe HM, Wassink AMJ, Vernooij JWP, Spiering W, et al. Increased visceral adipose tissue is associated with increased resting heart rate in patients with manifest vascular disease. Obes Silver Spring Md. 2012;20:834–41.
44. Chin LC, Huang TY, Yu CL, Wu CH, Hsu CC, Yu HS. Increased cutaneous blood flow but impaired post-ischemic response of nutritional flow in obese children. Atherosclerosis. 1999;146:179–85.
45. Schlager O, Willfort-Ehringer A, Hammer A, Steiner S, Fritsch M, Giurgea A, et al. Microvascular function is impaired in children with morbid obesity. Vasc Med Lond Engl. 2011;16:97–102.
46. Giurgea G-A, Mlekusch W, Charwat-Resl S, Mueller M, Hammer A, Gschwandtner ME, et al. Relationship of age and body mass index to skin temperature and skin perfusion in primary Raynaud's phenomenon. Arthritis Rheumatol. 2015;67:238–42.
47. Shawket S, Hazleman B, Dickerson C, Brown MJ. Selective suprasensitivity to calcitonin-gene-related peptide in the hands in Raynaud's phenomenon. Lancet. 1989;334:1354–7.
48. Brain SD, Petty RG, Lewis JD, Williams TJ. Cutaneous blood flow responses in the forearms of Raynaud's patients induced by local cooling and intradermal injections of CGRP and histamine. Br J Clin Pharmacol. 1990;30:853–9.
49. Bunker CB, Foreman JC, Dowd PM. Digital cutaneous vascular responses to histamine and neuropeptides in Raynaud's phenomenon. J Invest Dermatol. 1991;96:314–7.
50. Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski J-L. Impaired transient vasodilation and increased vasoconstriction to digital local cooling in primary Raynaud's phenomenon. AJP Heart Circ Physiol. 2011;301:H324–30.
51. Biernacka-Zielinska M, Brozik H, Smolewska E, Mikinka M, Jakubowska T, Stanczyk J. Diagnostic value of thermography and endothelin concentration in serum of children with Raynaud's syndrome. Med Wieku Rozwoj. 2005;9:213–22.
52. Høyer C, Sandermann J, Paludan JPD, Pavar S, Petersen LJ. Diagnostic accuracy of laser Doppler flowmetry versus strain gauge plethysmography for segmental pressure measurement. J Vasc Surg. 2013;58:1563–70.
53. Høyer C, Paludan JPD, Pavar S, Biurrun Manresa JA, Petersen LJ. Reliability of laser Doppler Flowmetry curve reading for measurement of toe and ankle pressures: intra- and inter-observer variation. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2014;47:311–8.
54. Binaghi F, Cannas F, Mathieu A, Pitzus F. Correlations among capillaroscopic abnormalities, digital flow and immunologic findings in patients with isolated Raynaud's phenomenon. Can laser Doppler flowmetry help identify a secondary Raynaud phenomenon? Int Angiol J Int Union Angiol. 1992;11:186–94.
55. Murray AK, Moore TL, Manning JB, Taylor C, Griffiths CEM, Herrick AL. Noninvasive imaging techniques in the assessment of scleroderma spectrum disorders. Arthritis Rheum. 2009;61:1103–11.
56. Correa MJ, Andrade LE, Kayser C. Comparison of laser Doppler imaging, fingertip lacticemy test, and nailfold capillaroscopy for assessment of digital microcirculation in systemic sclerosis. Arthritis Res Ther. 2010;12:R157.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

BioMed Central