

1. BEVEZETÉS.....	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	5
2.1. Tüdőfibrozis és alveolitisz.....	5
2.1.1 Tüdőfibrozis patogenezisének főbb vonatkozásai.....	5
2.1.1.1. Kollagénmetabolizmus.....	7
2.1.1.2. Egyéb kötőszöveti komponensek.....	8
2.1.1.3. A gyulladásos/fibrotikus folyamatban résztvevő sejtekről.....	8
2.1.1.3.1. Limfociták.....	9
2.1.1.3.2. Polimorfonukleáris sejtek.....	10
2.1.1.3.3. Alveoláris makrofágok.....	11
2.1.1.3.4. Vaszkuláris endothel.....	12
2.1.1.3.5. Fibroblastok.....	13
2.1.2. Fibrotizáló alveolitisz főbb vizsgáló módszerei.....	14
2.1.2.1. Anamnézis, fizikális vizsgálat, rutin szűrő módszerek.....	14
2.1.2.2. Légzésfunkciós vizsgálatok, nagyfelbontású tüdő CT vizsgálat.....	16
2.1.2.3. Bronchoalveolaris lavage.....	16
2.1.2.4. Tüdőbiopszia.....	17
2.1.2.5. Gyulladásos mediátorok, citokinek vizsgálata.....	18
2.2. Pulmonális érintettség szisztémás autoimmun kórképekben.....	19
2.2.1. Systemás sclerosis.....	19
2.2.1.1. Systemás sclerosis pulmonális érintettségének főbb jellemzői.....	20
2.2.1.2. Szerves oldószer expozíció patogenetikai szerepe SSc-ban.....	20
2.2.2. Nem differenciált kollagenózis.....	22
2.2.3. Wegener granulomatózis.....	23
2.2.3.1. Citokinek és a Wegener granulomatózis.....	24
2.2.3.2. ANCA és a Wegener granulomatózis.....	24
2.2.4. Gyulladásos myopathiák.....	25
3. CÉLKITŰZÉSEK.....	26
3.1. Szerves oldószer expozíció vizsgálata kötőszöveti betegségekben.....	26
3.2. Pulmonális érintettség és egyéb klinikai tünetek vizsgálata nem differenciált kollagenózisban.....	26
3.3. Az alveolitisz jellemzése szisztémás autoimmun kórképekben.....	26
4. MÓDSZEREK.....	28
4.1. Szerves oldószer expozíció vizsgálata szisztémás autoimmun kórképekben.....	28
4.2. NDC-os betegek klinikai/laboratóriumi vizsgálata.....	31

<u>4.3. Az alveolitisz gyakoriságának és típusának vizsgálata szisztémás autoimmun kórképekben.....</u>	<u>33</u>
4.3.1. A BAL folyadék sejttözetételének és az alveolitisz gyakoriságának meghatározása.....	33
4.3.2. Limfocita szubpopulációk meghatározása áramlási citométerrel.....	36
4.3.3. Az alveoláris makrofágok proliferációs aktivitásának meghatározása.....	38
4.3.4. Alveoláris makrofágok funkcionális vizsgálata SSc-ban.....	39
4.3.5. Citokinvizsgálatok szisztémás autoimmun kórképekben.....	41
4.3.5.1. Szekretált proinflammatorikus citokinek vizsgálata BAL folyadékban.....	41
4.3.5.2. Intracitoplazmatikus citokin vizsgálatok.....	42
4.3.5.2.1. Immunszuppresszív kezelés hatásának vizsgálata Wegener granulomatózisban.....	42
4.3.5.2.2. ANCA hatása a makrofágok citokin termelésére.....	43
4.3.5.2.3. A sejtek többszörös fluorescens jelölése áramlási citométeres vizsgálatokhoz.....	45
<u>5.1. Szerves oldószer expozíció szignifikánsan magasabb arányban mutatható ki SSc-ban szenvedő nők kórtörténetében, mint a kontroll csoportban.....</u>	<u>47</u>
<u>5.2. A pulmonális érintettség gyakori NDC-ban, de általában enyhe klinikai tünetekkel jár.....</u>	<u>49</u>
<u>5.4. A limfocita szubpopulációk meghatározása során a citotoxikus T-sejtek felszaporodását mutattuk ki a megnövekedett limfocitaszám háttérében SSc esetén.....</u>	<u>55</u>
<u>5.5. Az alveoláris makrofágok fokozott lokális proliferációja szoros összefüggést mutat a granulocitás alveolitisz aktivitásával.....</u>	<u>58</u>
<u>5.7. A szisztémás autoimmun kórképekre jellemző citokinprofil jelentős eltérést mutat az egészséges populációban észleltekhöz képest.....</u>	<u>65</u>
5.7.1. Emelkedett TNF- α és IL-6 termelést mutatnak az alveoláris makrofágok SSc esetén.....	65
5.7.2. A megváltozott citokin-egyensúly jellemzésére alkalmazott áramlási citométeres vizsgálatok alkalmasnak bizonyultak a terápiás hatás nyomonkövetésére WG-ban...	66
5.7.3. Az ANCA patogenetikai szerepét bizonyítja a TNF- α termelésére kifejtett hatása WG-ban.....	69
5.7.4. További intracitoplazmatikus citokin vizsgálatok áramlási citométerrel.....	69
<u>8. ÖSSZEFOGLALÁS.....</u>	<u>83</u>
<u>9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....</u>	<u>85</u>
<u>10. RÖVIDÍTÉSEK.....</u>	<u>87</u>

1. Bevezetés

A szisztémás autoimmun kórképek (kötőszöveti betegségek) ismeretlen eredetű, több szervet érintő, általában markáns immunológiai eltérésekkel járó, kórképenként (s egyes kórképeken belül betegenként egyaránt) nagy változatosságot mutató betegségek. A kötőszöveti betegségek általános jellemzője a gyakori légzőrendszeri érintettség. Az alveoláris térben észlelhető kontinuuusan zajló gyulladás (alveolitisz) tüdőfibrozishoz vezet. A fibrotizáló alveolitisz patomechanizmusa, súlyossága és prognózisa azonban jelentősen eltér az egyes kórképekben [1,2,3,4,5,6,7,8].

A perifériás vérben észlelhető eltérések általában nem jelzik egyértelműen a belszervi folyamatok jellegzetességeit. A belső szervek parenchimájában zajló gyulladással járó folyamatok tanulmányozása – az invazív mintavételi lehetőségek miatt – nehéz. Ez alól talán egyedül a tüdő kivétel: bronchoscopos vizsgálat során az alveoláris tér átmosható (bronchoalveoláris lavage /BAL/), onnan folyadék nyerhető, melynek sejtes összetétele tükrözi az ott zajló lokális, aktív gyulladással járó folyamatokat [9,10,11].

Szisztémás autoimmun kórképek (systemás sclerosis /SSc/, systemás lupus erythematosus /SLE/, polymyositis/dermatomyositis /PM/DM/, nem differenciált kollagenózis /NDC/) esetén aktív alveolitiszt akkor állapítunk meg, ha az alveoláris térben steril gyulladás mutatható ki: az összsejtszám megnövekedése mellett valamely sejtcsoport aránya is megváltozik. Amennyiben a limfociták aránya nő meg, akkor limfocitás alveolitiszt, ha pedig a polimorfonukleáris sejtek aránya mutat emelkedést, granulocitás alveolitiszt állapítunk meg. Az összsejtszám növekedéséhez általában a monocitoid elemek számának emelkedése is jelentősen hozzájárul. A sejtek aktivált állapotban vannak, gyulladással járó mediátoraik révén a környező szövetek károsodását, majd a tüdőparenchima fibrotikus átépülését okozzák. A folyamat minden részlete nem

ismert, feltételezhetően mind genetikai tényezők, mind környezeti faktorok szerepet játszanak a jelenség kialakulásában. Ez a két tényező együttesen az immunrendszer működését befolyásoló anyagok (citokinek, kemokinek) felszabadulását, az immunválasz módját (celluláris/humorális válasz) meghatározó Th1/Th2 rendszer megváltozott egyensúlyát, oxidatív gyökök felszaporodását, megnövekedett kollagénszintézist és az extracelluláris mátrixproteinek depozícióját eredményezi. Mindez végül súlyos szervi károsodáshoz (például tüdőfibrozishoz) és az érintett szervek elégtelen működéséhez vezet [12,13].

A gyulladás lefolyása, kezelhetősége függ a gyulladásban résztvevő sejtek típusától. A BAL vizsgálattal kimutatható limfocitás alveolitist általában lassabb progressziójú, kezelésre jobban reagáló elváltozásnak tekintik a rosszabb prognózisú granulocitás típussal szemben [14,15,16,17]. Amíg az aktív gyulladás gyógyszeresen gátolható, addig a kialakult fibrózis már végleges, visszafordíthatatlan állapot. Az alveolitisz következményeként fellépő fibrózis adott esetben súlyos lehet, összességében a beteg halálához vezethet. Ezek alapján fontos cél, hogy a különböző betegségek pulmonális érintettségét a lehető leghamarabb diagnosztizáljuk, s az eltérő gyulladásos folyamatok patomechanizmusát, patogenetikai és prognosztikai jellemzőit meghatározzuk a sikeresebb kezelés érdekében [18,19,20].

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Tüdőfibrozis és alveolitisz

2.1.1 Tüdőfibrozis patogenezisének főbb vonatkozásai

Irodalmi összefoglalásunk során a pulmonális fibrózis modellbetegségeként az idiopathiás pulmonális fibrózist /IPF/ használtuk, s egyúttal utalunk a tárgyalás során a szisztémás autoimmun betegségek ettől eltérő tulajdonságaira. Röviden ismertetjük a legfontosabb, a klinikumban is széles körben használt vizsgálati eljárásokat.

Két folyamat együtteséről van szó, amelyben egyrészt egy autoimmun patomechanizmusú gyulladáshoz vezető folyamat játszódik le a tüdőben (alveolitisz, intersticiális pneumonitis), másrészt ezzel egyidőben, vagy ezt követően fibrózis alakul ki. Genetikai prediszpozíció és környezeti provokáló tényezők hatása egyaránt feltételezett ezen kórfolyamatok hátterében. A genetikai prediszpozíció (pl. HLA-DR3/DR52a haplotípus jelenléte SSc-ban [21], vagy egyes fibronectin géntípusok az egészséges populációtól eltérő előfordulási aránya [22]) és a környezeti provokáló tényezők (pl. kvarcpor, szerves oldószer expozíció, retrovírusok [23]) együttesen az immunrendszer aktivációját és vaszkuláris károsodást eredményeznek. Mindkettő az immunrendszer működését befolyásoló mediátorok (citokinek, kemokinek) felszabadulását, oxidatív gyökök felszaporodását, megnövekedett kollagénszintézist és az extracelluláris mátrixproteinek depozícióját eredményezi. Mindez további ér- és szövetkárosodáshoz vezethet [13] (**1. ábra**). A közben zajló folyamatok rendkívül sokfélék és szerteágazóak, melyek aránya és a jelentősége kórképenként, illetve kórképeken belül egyes szervek esetén is eltérő lehet.

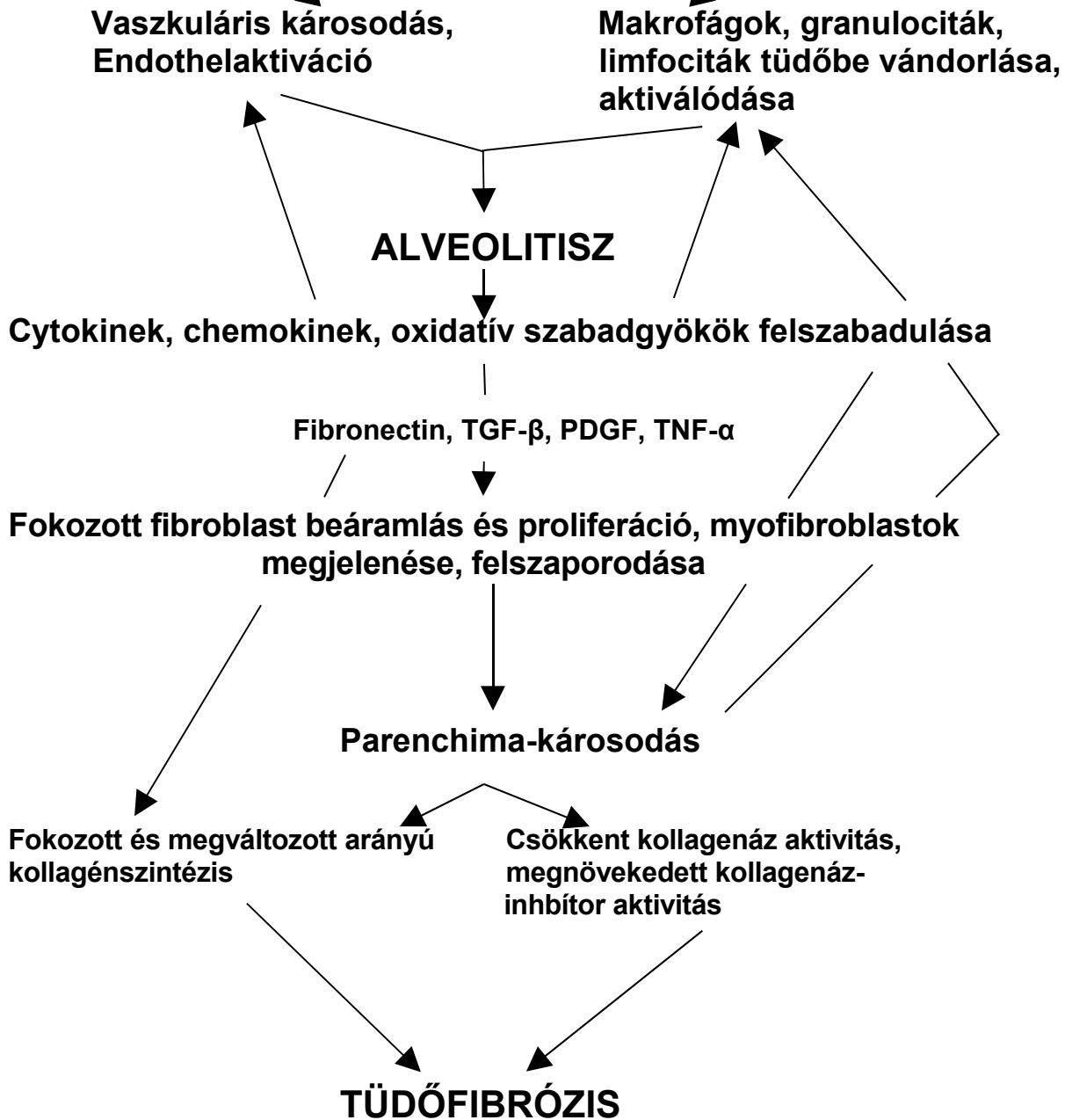
1. ábra: A pulmonális fibrózis kialakulásának összefoglaló folyamatábrája.

GENETIKAI PREDISZPOZÍCIÓ

HLA és egyéb gének

KÖRNYEZETI ÁRTALMAK

Kvarcpor, retrovírusok, vegyszer-
expozíció, egyéb ismeretlen hatások



A tüdőparenchima normál struktúrájának fenntartása a kollagénképződés és lebontás egyensúlyán, a kötőszöveti mátrix normál arányának biztosításán alapul. IPF-ban mindkét folyamatban kimutathatóak a normálistól eltérő jelenségek. Továbbiakban a kollagén metabolizmusáról, a kötőszöveti mátrix anyagok fibrózisban betöltött szerepéről ejtünk néhány szót. Az ezt követő részben a gyulladásos folyamatokban résztvevő sejtek, az általuk termelt citokinek IPF-ban észlelt változását mutatjuk be az egyes kórképekben ismertté vált különbségek mellett.

2.1.1.1. Kollagénmetabolizmus

Ma már számos kollagéntípus ismert, amelyek különbséget mutatnak mind makromolekuláris felépítésüket, mind szöveti megoszlásukat tekintve. Így pl. IPF-ban kimutatták az I-es és a III-as típusú kollagén arányának megváltozását, míg ez az arány SSc-ban változatlan maradt [24]. Emellett igazolható volt a III-as típusú prokollagén peptidnek, a kötőszöveti képződés egyik markerének egészségesekénél magasabb szintje a BAL folyadékban, igazolva a fokozott lokális kollagénszintézist. Emellett a VI-os kollagéntípus (érfalak intima rétegében, de sok más kötőszövetben, így a tüdő interstitiumában is megtalálható kollagén) fokozott expresszióját a tüdőfibrózis inkább korai, mint késői jeleként értékelték [25].

Kimutatták azt is, hogy az IPF-ban szenvedő betegek BAL folyadéka önmagában képes volt fokozni egy fibroblast sejtvonal proliferációját [26]. A II-es típusú alveoláris epithelsejtek erős tumor necrosis factor-alpha /TNF- α / és transforming growth factor-beta /TGF- β / pozitivitást mutattak (mindkettő fibrózist fokozó citokin).

A kollagénlebontás megváltozásának is döntő szerepe lehet a patomechanizmusban. IPF-ban magas kollagéntartalom mellett alacsony kollagenáz aktivitás észlelhető [27], melyben a megváltozott proteáz-proteázinhibitor arány játszhat fontos szerepet. Fibroblastokat vizsgálva a metalloproteázok szöveti inhibitorának /TIMP/ emelkedett termelését igazolták. A TIMP szérumszintje negatív korrelációt mutatott a szénmonoxid diffúziós koefficienssel, tehát jelezheti a tüdő funkcionális állapotát is [28].

2.1.1.2. Egyéb kötőszöveti komponensek

A kollagén mellett több kötőszöveti mátrixkomponens is fontos lehet az IPF patogenezisében. IPF-ban szenvedő betegek BAL folyadékában mért hyaluronsavszint magasabb volt, mint a kontrollokéban, s ez jól korrelált a megnövekedett neutrofil granulocita és limfocita számmal, illetve negatív korrelációt mutatott a tüdő funkcionális állapotát jelző szénmonoxid diffúziós koefficienssel [29].

2.1.1.3. A gyulladásos/fibrotikus folyamatban résztvevő sejtekről

A kollagén fokozott képződését megelőző, avagy egyes vizsgálatok szerint azzal egyidőben fellépő folyamatokról [30] is sokat tudunk. Tüdőbiopsziás minták szövettani vizsgálata SSc-ban emelkedett makrofágszámot mutatott esetenkénti neutrofil, eozinofil granulocita és/vagy limfocita felszaporodással az alveoláris térben, míg az alveolusok falában és az interstitiális térben főként limfociták és plazmasejtek infiltrációja mutatható ki [30]. Az interstitiumban gyakran figyelhető meg centrum germinatívummal rendelkező,

szekunder folliculushoz hasonló képződmény. A sejtek általában aktivált állapotban vannak [31].

2.1.1.3.1. Limfociták

Alveolitisz esetén a BAL folyadékból izolálható limfociták aktiváltságára több tényező mutat. Ezek a sejtek HLA-DR (késői sejtaktivációs markernek tekinthető) és CD25 (interleukin-2 receptor, T-sejt aktivációban döntő szereppel bír) expresszió mellett a felszínükön túlnyomó többségben CD45RO antigént (memória sejtek markere) is hordozzák [32]. A limfocitákat funkcionális szempontból szokás aszerint is felosztani, hogy a citokintermelésük révén inkább a sejtes (Th1), vagy inkább a humorális (Th2) immunválaszt segítik elő. Néhány vizsgálat szerint SSc-hoz társuló fibrotizáló alveolitisz esetén a citokinprofil nem jellemző sem a Th1, sem a Th2 típusú immunválaszra [33], míg más vizsgálatok inkább a Th2-es immunválasz dominanciáját igazolták az interleukin-4 /IL-4/ mRNS-ének felszaporodásával [34]. Idiopathiás pulmonális fibrózisban egyértelműen Th2-es jellegű citokinprofilt mutattak ki [33]. Ismert, hogy az IL-4 elősegíti a fibroblastok proliferációját és az extracelluláris mátrix termelését, míg az interferon-gamma /INF- γ / (Th1-es immunválaszra jellemző citokin) inhibitora a kollagénszintézisnek. Olyan vizsgálatot is közöltek, amelyben a szerzők szerint az IPF és a SSc-hoz társult pulmonális fibrózis patomechanizmusa között pont a Th1/Th2 válasz különbözősége lenne a döntő: IPF-ban a Th2 citokinválasz dominál, míg SSc esetén kevert típusú a citokinprofil [33]. Sarcoidózisban a BAL vizsgálatok során észlelt jelentős CD4 többlettel szemben SSc-ra a CD8 sejtek felszaporodása jellemző [35]. A

CD8 pozitív T-sejtekben az IL-4 mRNS-ének fokozott expresszióját írták le, így scleroderma esetén egy „Tc2” típusú válasz lehet a döntő [34].

2.1.1.3.2. Polimorfonukleáris sejtek

A granulociták szerepét jelzi, hogy IPF-ban általában megemelkedett számban találhatóak az alveoláris térben, és a tüdőparenchimában is magas arányban mutatták ki jelenlétüket [36]. A polimorfonukleáris sejtek felhalmozódásában az alveoláris makrofágok által termelt IL-8-nak jelentős szerepe van. A patogenezisben proteolitikus enzimeik (neutrofil elasztáz és kollagenáz) és oxidatív gyökök képzése révén vehetnek részt. IPF-ban az oxidatív gyökök fokozott termelését mutatták ki. A neutrofil sejtek aránya IPF esetén a BAL folyadékban pozitív korrelációt mutatott az oxidált methionin rezidumok mennyiségével [37]. Rheumatoid arthritisben /RA/ szenvedő tüdőfibrózisos betegek BAL folyadékában mind a neutrofil elasztáz, mind a myeloperoxidáz enzim szintjét emelkedettnek találták. Ezek szintje szoros korrelációt mutatott mind a granulociták százalékos arányával, mind a tüdő különböző funkcionális paramétereivel, mint pl. a diffúziós kapacitással [38].

Az eozinofil sejtek szerepe kevésbé tisztázott. Ismert, hogy ezek a sejtek megnövekedett számban találhatóak, illetve secretált termékeik (eozinofil kationos protein, vasoaktív aminok) emelkedett mennyiségben mutathatók ki a tüdő interstitiumában és a BAL folyadékban [39]. Az eozinofil sejtek prognosztikus faktorként való értékelése is felvetődött, azaz a magas eozinofil sejtszám a tüdő funkcionális paramétereinek fokozatos romlását valószínűsítene [40].

2.1.1.3.3. Alveoláris makrofágok

A limfociták és/vagy granulociták fokozott aránya mellett az alveolitiszt a makrofágok számának megnövekedése, aktivált állapota jellemzi. Az aktiváció során nemcsak sejtfelszíni markereik változnak meg (a calprotectin a gyulladás korai fázisára jellemző, míg a CD163 a gyulladás későbbi fázisára jellemző sejtfelszíni antigén), hanem fagocitáló képességük, citokin-termelésük is jelentősen megváltozik. Ezek a sejtek aktivációjuk során számos, az alveolitisz patogenezisében fontos szerepet játszó mediátor (IL-8, TNF- α , fibronectin, platelet derived growth factor /PDGF/, insulin-like growth factor-1 /IGF-1/ és TGF- β) termelésére képesek. Megnövekedett IL-8 mRNS expressziót írtak le SSc-ban, illetve IPF-ban, ami felelős lehet a neutrofil granulociták akkumulációjáért. Az alveoláris makrofágok által spontán is termelt TNF- α mennyisége megemelkedett fibrotizáló alveolitiszben az egészséges kontrollokhoz képest [41]. Ez fontos szerepet játszhat a gyulladásos sejtek felszaporodásában az endotheliális adhéziós molekulák (ICAM-1, E-selectin, VCAM-1) expressziójának fokozása [42] révén. A vaszkuláris endothel sejtek mellett az alveoláris makrofágok által is termelt endothelin-1 (potens fibroblast kemoattractáns) emelkedett szintjét találták BAL folyadékban. A fibroblastok proliferációját további citokinek befolyásolják, így az IGF-1 és a PDGF-1 emelkedett szekrécióját észlelték az alveoláris makrofágok vizsgálata során IPF-ban. SSc-os betegek BAL folyadékából izolált myofibroblastok PDGF-1 vagy TGF- β hatására fokozott proliferatív reakcióval válaszolnak [43]. A TGF- β szintjére vonatkozó vizsgálatok némileg ellentmondásosak, de összességében valószínűsíthető a megemelkedett szint [43,44]. SSc-ban szenvedő betegek pulmonális fibroblastjai TGF- β hatására fokozott prokollagén mRNS szintézissel válaszolnak in vitro [45], de van ennek

ellentmondó adat is [46]. Az alveoláris makrofágok citokintermelésük (pl. IL-10) révén a limfocitákkal kölcsönhatásban szerepet játszhatnak a Th1/Th2 egyensúly meghatározásában is [47]. Másrésztől makrofágok funkcionális károsodása is lehetséges. Ismeretes például, hogy SLE-ban az alveoláris makrofágok antibakteriális aktivitása jelentősen károsodott [48]. SSc-ban a macrophage inflammatory protein-1 /MIP-1/ kemokin szignifikánsan emelkedett szérumszintjét és epidermális expresszióját észlelték. Ennek a molekulának a limfociták és a monociták gyulladás helyére történt vándorlásában van szerepe [49].

2.1.1.3.4. Vaszkuláris endothel

A vaszkuláris endothel szerepe összetett, hisz nemcsak célpontja, hanem egyben résztvevője is - több szinten - a gyulladásos folyamatoknak. Az endothel sejtek fontos forrásai számos citokinnek (PDGF, TGF- β), vasoaktív fehérjének (endothelin-1, NO, prostaglandinok, prostacyclinek) és néhány, a véralvadással kapcsolatos folyamatokban szereplő anyagnak (antithrombin-III, protein-S, thrombomodulin). Az endothel nemcsak a gyulladásos sejtek kemotaxisával, hanem a sejteknek az érfalon keresztül – a felszíni adhéziós molekuláik (például ICAM-1, VLA-4) révén - a gyulladásos szövetbe juttatásával is résztvesznek az immunológiai folyamatokban. IPF-ban az endothelin-1-nek (vaso- és bronchoconstrictor, fibroblast chemotaktikus és mitogen peptid), illetve az aktiválását végző enzimnek - melynek szintje korrelációt mutatott a betegség fennállásának idejével - megnövekedett expresszióját írták le. [50]. IPF-es betegek BAL folyadékában szignifikánsan alacsonyabb koncentrációját találták az úgynevezett vascular endothelial growth factornak /VEGF/, mely egy potens angiogenetikus fehérje.

RA-ben, DM/PM-ben és SSc-ban viszont a VEGF emelkedett szérumszintjét észlelték. Az utóbbi esetében a VEGF szintje és a tüdőfibrózis előfordulása, valamint a csökkent vital kapacitás között szoros összefüggést írtak le [51]. SSc-ban az anti-endotheliális antitestek /AECA/ előfordulási aránya magasabb, mint az egészségesekben, s az AECA pozitív betegekben szignifikánsan gyakrabban fordul elő pulmonális hypertensio az AECA negatívakhoz képest. Az endothel sejtek azonban nemcsak a humoralis, hanem a sejtes immunválasz célpontjai is lehetnek. SSc-os betegek tüdejében a γ/δ T-sejt receptort hordozó limfociták felszaporodása figyelhető meg. A SSc-ban szenvedő betegek γ/δ T-sejtjei magasabb arányban kapcsolódnak össze endothel sejtekkel, és gyakrabban mutatnak proliferációs választ, mint az egészségesek hasonló sejtjei [52]. A von Willebrand faktor /vWF:Ag/ plazmaszintje, amely endothelkárosodási markernek tekinthető, magasabb volt SSc-ban szenvedők esetén, mint egészségesekben, s legmagasabb a súlyos tüdőfibrózisos betegekben volt [53].

2.1.1.3.5. Fibroblastok

A pulmonális fibrózis kialakulásában központi szerepet játszanak a fibroblastok. A kollagénszintézissel kapcsolatos megfigyeléseket a korábbiakban tárgyaltuk. A megváltozott kollagén termelés mellett a fibroblastok más funkcióinak károsodására is fény derült. IPF-ban a prostaglandin-E2 csökkent termelését írták le, mely eltérés mögött a COX-2 enzim defektusa áll [54]. Nemcsak számos sejt-sejt, illetve citokin-sejt interakció van befolyással a fibroblastok proliferációjára és kollagéntermelésére, hanem például az oxidatív gyökök regulációjában fontos glutathion is. Kimutatták, hogy az alveolusok falát borító folyadékfilmben levő glutathion /GHS/ csökkent mennyiségben

van jelen IPF-ban, s in vitro GSH-val blokkolható a betegek BAL folyadékával kiváltott fibroblast proliferáció. A fibroblastoknak van egy érdekes alcsoportjuk, nevezetesen a myofibroblastok csoportja, melyek egyaránt hordoznak fibroblastra (pl. óriási durva endoplasmikus retikulummal rendelkeznek) és simaizomsejtre (kontraktilitás, alpha-smooth muscle / α -SM/ actin filamentum) jellemző tulajdonságokat. IPF-ban szenvedő betegek alveoláris makrofágjait izolálva egyes szerzők azt találták, hogy ezen sejtek 100%-ban α -SM actin pozitívak [55], míg mások ezzel ellentétes adatot is közöltek [56]. SSc-os betegek BAL folyadékából kitenyésztett myofibroblastok TGF- β 1 és PDGF (melyek szintje a BAL folyadékban SSc esetén emelkedett) hatására növelték (3H)timidin-beépítésüket, azaz ezen citokinek mitogen hatásúak a myofibroblastokra [43].

2.1.2. Fibrotizáló alveolitisz főbb vizsgáló módszerei

A kötőszöveti betegségek vonatkozásában nem elég a pulmonális érintettség lehetőségére gondolnunk, annak jeleit tudatosan kell keresnünk a klinikailag tünetmentes betegekben is.

2.1.2.1. Anamnézis, fizikális vizsgálat, rutin szűrő módszerek

Az anamnézis és a fizikális vizsgálat már utalhat a szisztémás autoimmun kórkép légzőszervi érintettségére. A tünetek gyakran nem egy időben jelentkeznek, hanem akár több hónap, év is lehet a különböző szervi manifesztációk megjelenése között. Másrészt néhány tünetet a beteg magától nem mond el, így mindig kérdezzünk rá a legjellemzőbb panaszokra és a lehetséges etiológiai tényezőkre. Érdeklődjünk az

esetleges családi halmozódás, a lehetséges foglalkozási ártalmak (fizikai stressz és vegyszerexpozíció), alkalmazott gyógyszerek, és korábbi fertőzőes kórképek felől is. Keressük a légzőszervi érintettségre utaló tüneteket, mint a fokozódó dyspnoe, a száraz köhögés és ritkán a vércöpés. A dyspnoe a mozgásszervek érintettsége miatt rejtve maradhat. A fizikális vizsgálat során jellemző lehet a bibasilaris inspiratios fibrotikus pattogás, a tachypnoe, a tachycardia és a dobverőujj.

A hagyományos *mellkas röntgen* továbbra sem nélkülözhető vizsgálati eljárás. Nemcsak a differenciál-diagnosztikában, hanem a betegség kiterjedtségének és súlyosságának megítélésében is fontos. Ugyanakkor hangsúlyozni kell, hogy a negatív mellkas röntgen nem zárja ki az intersticiális tüdőbetegség fennállását, ezért ha a panaszok vagy a funkcionális mérési eredmények alapján felmerül annak gyanúja, érzékenyebb módszereket (ld. alább) is igénybe kell vennünk. Az elváltozások rendszerint kifejezettebbek az alsó tüdőmezőkben, és főként a subpleuralis területek érintettek.

A rutin szűrővizsgálatok viszonylag egyszerű, olcsó és kockázatmentesen elvégezhető vizsgálatok, amelyek a klinikai képpel együtt értékelve jelentős segítséget nyújthatnak diagnosztikus stratégiánk helyes irányának megválasztásában. Az egyik ilyen legfontosabb lehetőség az *antinucleáris antitest vizsgálatok végzése*. Az egyes kórképekre jellemző autoantitestek azonosítása fontos segítség a diagnózis felállításához, az egyes alcsoportok elkülönítéséhez. Más esetekben, pl. DM/PM esetén a szervi manifesztáció gyakoriságával, súlyosságával is összefügghet az autoantitest jelenléte (anti-Jo-1 pozitivitás súlyos pulmonális érintettséggel), míg pl. SLE-ban az anti-dsDNA titere a betegség aktivitásával van összhangban.

2.1.2.2. Légzésfunkciós vizsgálatok, nagyfelbontású tüdő CT vizsgálat

Az interstitiumban zajló gyulladás értékelésében az alveolitisz kiterjedésének, illetve a következményes pulmonális fibrózis előrehaladásának nyomonkövetése alapvető fontosságú. A légzésfunkciós vizsgálatok közül a pulmonális folyamatok megítélésében a vitál kapacitás nem bizonyult elég érzékenynek [57]. A diffúziós kapacitás mérése már elég érzékeny módszer [58], de nem tájékoztat a folyamat kiterjedéséről. A tüdőparenchyma állapotának megítélésében nagyon pontos eszköznek bizonyult a nagyfelbontású computer tomographia /HRCT/ [59,4,60,61]. Összességében a tüdőben zajló folyamatok véleményezésére a fenti módszerek kombinációja a legalkalmasabb. A gyulladás mértékének megítélésére rendelkezésünkre álló többi módszer, mint például a gallium-scintigraphia, ⁹⁹technécium-dietilén-triamin-pentaacetát /⁹⁹Tc-DTPA/ clearance-idő mérése, vagy a mágneses rezonancia vizsgálatok a hétköznapi gyakorlatban nem terjedtek el.

2.1.2.3. Bronchoalveolaris lavage

Bronchoalveolaris lavage segítségével biztonsággal ítélni lehet meg az interstitiális tüdőbetegségek aktivitását, alveolitisz jelenlétét [62]. Alveolitisz esetén az alveoláris makrofágok számának emelkedése mellett a polimorfonukleáris sejtek (neutrofil és eosinofil) arányának és egyben abszolút számának megnövekedése dominál. Ez a típusú alveolitisz fordul elő leggyakrabban SSc-ban [31,61,63]. Az alveolitisz másik típusában a limfociták arányának és abszolút számának megemelkedése jellemző. Limfocitás típusú alveolitisz jellemzi a Sjögren szindrómát /SS/, RA-es és a SLE-os

betegek pulmonális folyamatát. Limfocitás alveolitisz néhány esetben SSc esetén is észlelhető, különösen SS-val való társulása esetén [41,64].

Alveolitisz során az észlelt sejtarány változások mellett a sejtek össz száma is jelentős mértékben megemelkedik. A sejtszám változása az alveoláris makrofágok számának növekedésével is jár, melynek háttérében a perifériás vér monocita beáramlását tartják legfontosabb tényezőnek [65]. Emelkedett CD11a és CD11b expressziót mutató, kisméretű, monocitaszerű alveoláris makrofágok számának emelkedését mutatták ki IPF-ban szenvedő betegek BAL folyadékában [66,67,68]. Az úgynevezett gyulladósos akut fázis makrofágok (calprotectin pozitív sejtek) emelkedett számát, illetve ezzel párhuzamosan a BAL folyadék emelkedett neutrofil granulocita számát mutatták ki SSc-os és DM/PM-es betegek BAL folyadékában [67]. A perifériás vér monocita beáramlása mellett a makrofágok számának emelkedésében lokális proliferációjuk is számításba jön, amint ezt egy vizsgálat bizonyította is [69].

2.1.2.4. Tüdőbiopszia

Szisztémás autoimmun kórképek esetén amennyiben a panaszok, tünetek és a fenn említett vizsgálatok alapján nem merül fel egyéb etiológiájú betegség lehetősége, általában nem szükséges tüdőbiopszia. Az alveolitisz és a tüdőfibrózis diagnózisának kimondásához ezekben az esetekben rendszerint elegendő a betegek panaszainak, valamint a röntgenlelet, a funkcionális vizsgálatok, a HRCT és a BAL eredményének együttes értékelése.

A tüdőbiopszia különböző formái közül a *vastagtű biopsziát* ma már egyáltalán nem használják súlyos szövődményei miatt.

A bronchoscopiás vizsgálat során *kefebiopsziás és transbronchiális mintavétel végezhető*. Az előbbivel citológiai és bakterológiai vizsgálatokhoz (daganatsejt, atípusos kórokozó, mycobacterium, gomba), az utóbbival szövettani vizsgálatához nyerhető minta. Zsiray és munkatársai nagyszámú betegen vizsgálva azt találták, hogy az ismeretlen eredetű disszeminált tüdőbetegség miatt végzett bronchoscopos mintavételek 25%-a definitív diagnózishoz vezetett, míg az esetek egy harmadában nem kórjelző tüdőfibrózis került leírásra. Ezen utóbbi esetek 40%-ában a fibrózis etiológiája sebészi biopsziával sem volt tisztázható [70].

Nyílt, *sebészi biopszia* [Klassen-féle] vagy videoasszisztált thoracoscopos tüdőbiopszia akkor indikált, ha a klinikai, a radiológiai, a HRCT és a BAL adatok, valamint a transzbronchialis biopszia alapján a kórisme nem állapítható meg. A foglalkozási eredetű, a gyógyszerek indukálta és a kollagén-vaszkuláris betegségekkel társult intersticiális tüdőbetegségekben a diagnózis rendszerint egyértelmű, és általában nincs szükség hisztológiai verifikációra. SSc-ban a biopsziás eredmények jól korrelálnak a BAL eredményekkel [71].

2.1.2.5. Gyulladásos mediátorok, citokinek vizsgálata

A gyulladásos folyamatok megítélésében segítségünkre van a különböző citokinek mérése is, különös tekintettel az úgynevezett proinflammatorikus citokinekre. Egy korábbi tanulmányunk szerint a szérumban mért citokin szintek nagy variabilitást mutattak [72] SSc-os betegeinkben. A vizsgált 18 beteg közül a TNF- α szintje 8, az IL-6 szintje 17, míg pl. az IL-1- β szintje minden beteg szérumában magasabb értéket mutatott, mint amilyenek a kontrollokéban mért adatok voltak [72]. A gyulladásos folyamatokban

számos citokin szerepet játszhat, ezek közül a TGF- β , az IL-1 és a TNF- α egyaránt képes az tüdő fibroblast sejtjeinek aktivációjára. Számos „fibrotikus” citokin termelésére képesek az alveoláris makrofágok, illetve az alveolitisz során az alveoláris térben felgyülemlett gyulladásos sejtek is részt vehetnek ezen folyamatokban. Ezért kiemelt fontosságú ezen sejtek funkcióinak meghatározása.

A citokinek regulációja egy rendkívül összetett folyamat, melynek számos részlete még nem ismert. Az immunválasz regulációjában kulcsfontosságú tényező az úgynevezett T-helper sejtek egyensúlyának megváltozása [73]. Ezt az egyensúlyt leginkább néhány jellemző citokin egyidejű mérésével szokás jellemezni. A szisztémás autoimmun kórképek esetén meglehetősen keveset tudunk ezen folyamatokról [74,75,76,77,78,79]. Bár néhány vizsgálat már történt a pulmonális folyamatok és a citokinek közötti összefüggés megítélésére is [33,34,41,43], de mindmáig a legtöbb vizsgálat a perifériás vérben észlelhető eltéréseket kutatja [77,74,80,81].

2.2. Pulmonális érintettség szisztémás autoimmun kórképekben

2.2.1. Systemás sclerosis

A SSc a bőr és a belső szervek fibrózisával és degeneratív elváltozásaival jellemezhető autoimmun megbetegedés. A kórkép immunpathológiai abnormalitásokkal (antinucleáris és egyéb autoantitestek jelenlétével, a celluláris immunitás megváltozásával), funkcionális és morfológiai vaszkuláris elváltozásokkal (szekunder Raynaud szindróma, ischaemiás/reperfúziós károsodások), illetve egyes szervek fibrózisával, a betegség késői stádiumában pedig atrófiás elváltozásokkal jár. Jellemzően a nők megbetegedése, s általában a 40-es életévekben kezdődik.

2.2.1.1. Systemás sclerosis pulmonális érintettségének főbb jellemzői

Napjainkban a kórkép tüdő- és szívérintettségével kapcsolatos morbiditás és mortalitás jelenti a legfőbb problémát [5]. A belső szervei tüneteket tekintve a kórkép pulmonális tünetei a leggyakoribbak [82,59,4]. SSc két altípusa [83] közül a mérsékelt bőrelváltozásokkal járó csoportban /lcSSc/ a belső szervek érintettsége később jelentkezik, lefolyása enyhébb. Hosszabb betegségfennállás esetén idiopathiás pulmonális hypertoniára hasonlító, jelentős intersticiális tüdőbetegség nélkül létrejövő súlyos pulmonális hypertonia jelentkezik [84,3]. A diffúz bőrelváltozással járó sclerodermás betegcsoportban /dcSSc/ viszont gyakori az alveolitisz, mely dominálón a rosszabb prognózisú neutrofil granulocitás típusba tartozik. Gyakran észlelhető azonban a limfociták felszaporodása is. Jellemző a CD8+ T-sejtek túlsúlya. A betegek 30%-ának szérumában anti-Scl-70 antinukleáris antitest észlelhető. A betegség kezdetén klinikailag tünetmentes alveolitisz is jelen lehet SSc-ben, [62,60,41]. A tüdőben kontinuuusan zajló intersticiális gyulladás évek alatt lépesméztüdő kialakulásához vezet. A tüdő érintettségének mielőbbi kimutatása ezért igen nagy jelentőséggel bír ezekben a kórképekben [4,5].

2.2.1.2. Szerves oldószer expozíció patogenetikai szerepe SSc-ban

A szisztémás autoimmun kórképek patomechanizmusában a környezeti ártalmak kulcsfontosságú szerepet játszanak. A scleroderma csoportba tartozó betegségek kiváltásában foglalkozási ártalmak patogenetikai szerepe is felmerült. A fizikai (pl. vibráció) károsító tényezők [85] mellett kémiai anyagok is gyanúba kerültek. A kémiai anyagok expozíciója nagyobb részt a tüdőn át, inhalációs úton következhet be. A vinilklorid, az

epoxy-gyanta és a silicátok mellett a szerves oldószerek lehetséges szerepével is több tanulmány foglalkozott [86,87,88,89]. Az utóbbi csoporton belül az alifás szénhidrogének (például triklóretilén, perklóretilén, benzin, xylén) expozíciója fontos provokációs tényezőnek bizonyult a scleroderma csoportba tartozó betegségek kiváltásában [86,87,90,91,92,93,94,95,96,97]. A fenti állítást munkacsoportunk korábbi közleményei is alátámasztják [98,92,91,99,100]. A szerves oldószereken belül a triklóretilén provokatív hatásáról számol be a legtöbb közlemény [96,101,98,92,102,95,96,103]. Más szerves oldószerek, így a perklóretilén, benzin [92,99] mellett más sok szerves vegyület patogenetikai szerepe is felmerült, így például az aminvegyületeké és a formaldehid származékoké is [90]. A szerves oldószerek expozíciós szerepe leginkább az anti-Scl-70 antitest pozitív SSc-os betegek [104,105], illetve a férfi munkások [87,86] körében bizonyított. A SSc-os nőbetegek körében jóval kevesebb felmérés készült, ezek közül kiemelnénk Yamakage és Ishikawa [106] munkája mellett munkacsoportunk korábbi, kelet-magyarországi beteganyagban végzett felmérését [107,108].

A szerves oldószerek provokációs szerepét csak kevés kontrollált vizsgálat tanulmányozta. Bovenzi és munkatársai által 21 SSc-os betegen elvégzett eset-kontroll tanulmányban szignifikáns összefüggést találtak az aromás szénhidrogének expozíciója és a scleroderma között [93]. Nietert és munkatársai 178 SSc-os beteg szerves oldószer expozícióját hasonlították össze 200 kontroll személyével. Ezek alapján mind a szerves oldószer, mind ezen belül a triklóretilén expozíció magasabb arányban fordult elő SSc-os férfiakban, mint a kontroll csoportban. Azon SSc-os nők és férfiak esetében, akik anti-Scl-70 pozitívak voltak, szignifikáns összefüggést találtak a szerves oldószer expozíció és a scleroderma között, míg az anti-Scl-70 negatív esetekben nem kaptak ilyen eredményt. [104]. Silman és munkatársai a scleroderma kialakulásának fokozott rizikóját tapasztalták

56 férfi esetén, mely azonban eset-kontroll analízisben nem bizonyult szignifikánsnak [109].

2.2.2. Nem differenciált kollagenózis

NDC-ről akkor beszélünk, ha a szisztémás autoimmun megbetegedés fennállása biztos, de a rendelkezésre álló laboratóriumi és klinikai tünetek alapján nem sorolható be egyik definitív szisztémás autoimmun kórképbe sem. A NDC vezető tünetei a Raynaud szindróma, a nem erozív polyarthritisz és a keratoconjunctivitis sicca [110,111,112,113,114]. A vezető tünetek mellett számos további tünet is jelentkezhet [110,115,116,114]. A laboratóriumi tünetek közül az egyik legfontosabb jel az antinukleáris antitestek jelenléte [117]. A későbbiek folyamán a betegek egy részénél a kórkép átmegy egy definitív kötőszöveti betegségbe [118,119,115,120,121,122], főként SSc-ba [121,122,123], SLE-ba [118,122,124,125], RA-be [116], vagy SS-ba [120,125], bár a NDC-os betegek többsége klinikai/laboratóriumi jellemzőit tekintve a nyomkövetés ideje alatt stabil marad [124,126,120,122,125]. Egy debreceni tanulmányban 113 NDC-ban szenvedő beteg hosszú távú sorsa a következőképpen alakult: A nyomkövetés átlagosan 11 éve során 34 betegnél lépett fel SLE, 7 betegnél kevert kötőszöveti betegség /MCTD/, 3 betegnél pedig SS lett a végső diagnózis. A 44 fenti betegen kívül azonban 60 beteg esetén a kórkép változatlan formában állt fenn továbbra is, illetve 9 betegnél teljesen megszűntek a panaszok [127]. Ugyanezen munkacsoport egy frissebb közleményében még több beteg 5 éves nyomkövetés adatairól számolt be [114]. Az 578 beteg közül 143 esetben lett a végleges diagnózis definitív kórkép, legmagasabb számban primer SS. 82 betegben a tünetek

visszafejlődtek, s nem jelentkeztek újra. A szerzők kiemelték, hogy a NDC-os betegek a nyomkövetés alatt rendszeres gondozást és kezelést igényeltek.

A tüdő érintettségéről keveset tudunk, a háttérben zajló alveolitisz főbb jellemzői sem voltak ismertek munkánk előtt. A pulmonális tünetek jelentősége sem volt eddig ismert. Mindössze annyi ismeretünk volt a korábbi tanulmányok alapján, hogy a tüdőfibrózis is jelen lehet a tünetek között [110,118,121,128].

A sclerodermán kívül nagyon kevés adat áll rendelkezésünkre a szerves oldószer expozíció szerepéről más szisztémás autoimmun kórkép patogenezisében [129,130,89]. Egy tanulmányban 205 NDC-os beteg petróleum-származék expozícióját vizsgálták, mely szerint a festék hígítók és az ásványi alkoholvegyületek mutattak összefüggést az NDC-sal [130].

2.2.3. Wegener granulomatózis

A Wegener granulomatózis /WG/ a szisztémás vaszkulitiszek közé sorolható autoimmun kórkép, mely a kis és közepméretű artériákat érintő, immundepozitum nélküli nekrotizáló vaszkulitisszel, a légző traktus granulomatózisos elváltozásával, nekrotizáló glomerulonefritisszel, illetve az anti-neutrofil citoplazmatikus antitest (ANCA) jelenlétével jellemezhető. A felső és az alsó légutakban megfigyelhető granulomatózis mellett a betegek 25-70 százalékában pulmonális fibrózis is kialakulhat, mely azonban csak a betegek mintegy 5-10 százalékában tekinthető vezető pulmonális tünetnek. A folyamatok háttérében, a granulóma-képződéssel jellemezhető aktív szakaszban, egy súlyos neutrofil (és eosinofil) granulocitás alveolitisz áll. Ha az intersticiális gyulladás áll előtérben, akkor egy limfocitás alveolitisz észlelhető, melyre a CD4+ T-sejtek felszaporodása jellemző.

2.2.3.1. Citokinek és a Wegener granulomatózis

A patomechanizmusban fontos szerepet játszhatnak az aktivált T-sejtek mellett a szintén aktivált szöveti makrofágok és neutrofil sejtek is [79,78,131,132,133]. Az aktivált CD4 pozitív T-sejtek INF- γ termelésének megnövekedése jellemzi a generalizált WG-t [79,78]. Szintén ismert a T-sejtek kontrollokhoz képest emelkedett TNF- α termelése [78]. A monociták citokintermelésük révén (például IL-12 emelkedett termelése) kulcsfontosságú szerepet játszanak a Th1 irányú differenciálódásban WG esetén [78]. Az emelkedett IL-12 mellett arról is közöltek már adatot, hogy a monocitákban a TNF génexpressziója is fokozott [134].

2.2.3.2. ANCA és a Wegener granulomatózis

A WG szerológiai jellegzetessége a proteinase-3 /PR3/ elleni anti-neutrofil citoplazmatikus antitest /PR3-ANCA/ [135,136]. Ennek patogenetikai szerepe mindmáig bizonytalan. A PR3 molekula sejtfelszíni expresziója neutrofil sejtek aktivációjakor, TNF- α hatására [137], vagy az apoptózis során fokozódik [138]. Az apoptotikus fehérvérsejtek eltávolításában, ezáltal a gyulladás aktív gátlásában a monocitáknak szintén kiemelkedő a szerepe [139]. Ezzel szemben, ha az apoptotikus fehérvérsejtek opszonizációjára is sor kerül, például anti-CD45 antitesttel, akkor a fagocitózist követően a monociták fokozott TNF- α kibocsátással válaszolnak, így fokozzák a gyulladós folyamatokat [139]. Az is ismert tény, hogy WG-ban a TNF- α fokozott termelődése figyelhető meg [78,79]. Gilligan

és munkatársai azt is kimutatták, hogy az ANCA képes az apoptotikus fehérvérsejtek opszonizációjára [138].

2.2.4. Gyulladásos myopathiák

A gyulladásos myopathiák (polymyositis, dermatomyositis) a proximális végtagizomzat szimmetrikus gyengeségével, izomlázszerű fájdalomával járó kórképek. A jellegzetes izomelváltozásokon túlmenően általános tünetek, az ízületek és más szervek érintettsége is megfigyelhető. Intersticiális tüdőbetegség a betegek 5-35%-ában észlelhető. Az intersticiális tüdőbetegségben szenvedő betegek több mint 50%-ában, RNS szintetázzal - jórészt a hisztidil-tRNS szintetázzal - szemben kialakuló autoantitest (anti-Jo-1) mutatható ki, mely súlyos pulmonális fibrózis kialakulását valószínűsíti. Enyhe gyulladásos izomtünetekhez is társulhat a tüdő elváltozása. Néha a myositis klinikai tünetei még nem is észlelhetők, csak a tüdőben zajló gyulladásos folyamat jelei. A betegség kezdetén klinikailag tünetmentes alveolitisz is jelen lehet DM/PM-ben [62,140]. Intersticiális tüdőbetegség jelenléte kedvezőtlenül befolyásolja a kórkép prognózisát.

3. Célkitűzések

3.1. Szerves oldószer expozíció vizsgálata kötőszöveti betegségekben

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

3.2. Pulmonális érintettség és egyéb klinikai tünetek vizsgálata nem differenciált kollagenózisban

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

3.3. Az alveolitisz jellemzése szisztémás autoimmun kórképekben

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

3.3.1. Vizsgálni kívántuk az egyes sejttípusok arányát egészséges és szisztémás autoimmun betegségben szenvedő személyek BAL folyadékában.

3.3.2. A limfociták alveolitiszben betöltött szerepét tanulmányozva meg kívántuk határozni az egyes alcsoportok arányát (T-sejt, T-helper sejt, T-citotoxikus sejt) SSc-ban, NDC-ban, illetve más kötőszöveti betegségekben.

3.3.3. Vizsgálni kívántuk azt is, hogy aktív alveolitiszes tünetek esetén van-e monocita beáramlás az alveoláris térbe. Célul tűztük ki az alveoláris makrofágok proliferációs aktivitásának meghatározását NDC-ban és SSc-ban, illetve meg kívántuk állapítani azt is, hogy ez tekinthető-e az aktív alveolitisz új markerének?

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

3.3.5. Célunk volt, hogy jellemezzük az egyes kórképek (NDC, SSc, WG) megváltozott citokin-egyensúlyát.

3.3.5.1. Szintén célkitűzésünk volt az alveoláris makrofágok proinflammatorikus citokintermelésének (TNF- α , IL-6) vizsgálata SSc-ban szenvedők BAL folyadékában ELISA módszerrel.

3.3.5.2. Az egyes sejttípusok citokin termelésének intracitoplazmatikus meghatározása céljából 6 paraméter egyidejű vizsgálatára alkalmas módszert kívántunk beállítani.

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

4. Módszerek

4.1. Szerves oldószer expozíció vizsgálata szisztémás autoimmun kórképekben

A betegek klinikai tüneteit, laboratóriumi paramétereit a munkacsoportunk által korábban publikált protokollok [5,141] alapján számítógépes nyilvántartásban vezetjük. Ezen adatokat a szerves oldószer expozíciós gyakoriságának meghatározására a betegek otthonába eljuttatott kérdőívekre adott válaszokkal bővítettük ki, illetve a lakóhely szerint egyeztetett kontroll személyek adatait is összegyűjtöttük.

Kutatásaink elvégzéséhez engedélyt kaptunk a regionális etikai bizottságtól. Részletes tájékoztatást követően minden egyes résztvevő beleegyezett a vizsgálatok elvégzésébe.

64 SSc-ban szenvedő nőbeteg vett részt vizsgálatunkban. Mindegyik beteg megfelelt a SSc diagnosztikai kritériumainak [142]. 54 beteg tartozott a lcSSc, míg 10 beteg a dcSSc alcsoportba [83]. 17 olyan további nőbeteg is vizsgáltunk, akik nem feleltek meg minden ARA kritériumnak [142], de a klinikai kép alapján betegségük lcSSc-nak felelt meg [142].

Hatvanhat NDC-os nőbeteg képezte vizsgálatunk következő betegcsoportját. A diagnózist Calvo-Alén és munkatársai [118], illetve Alarcón és munkatársai [143] korábbi munkáján alapuló saját, publikált kritériumrendszerünk segítségével állapítottuk meg **(1. táblázat)** [19]. (A módosítás lényege a kapilláris mikroszkópos eltérések, a specifikus autoantitest meghatározások és az anti-foszfolipid problémakör felvétele volt.

Negyvenöt SLE-os, 16 DM/PM-es, 13 primer SS-ás és 15 RA-es nőbeteg kérdőíves vizsgálatát is elvégeztük. Ezen kórképeket nemzetközileg elfogadott kritériumoknak megfelelően diagnosztizáltuk [144,145,146].

1. táblázat: Klasszifikációs kritériumok Nem differenciált kollagenózis diagnózisának felállítására

Fő tünetek:

- Raynaud' szindróma.
- Nem-erozív, szimmetrikus polyarthrititis.
- Izolált eratoconjunctivitis sicca.

További tünetek:

- Arthritis / arthralgia.
- Sicca-tünetek.
- Bőrpír / dermatitis, alopecia / szájfekélyek / UV-fényérzékenység.
- Tüdőfibrozis / alveolitisz / csökkent diffúziós kapacitás / csökkent vitalkapacitás.
- Nyelési panaszok / nyelőcső égés / nyelőcső dysmotilitás.
- Szívérintettség.
- Pleuritis / pericarditis.
- Perifériás neuropathia / központi idegrendszeri tünetek.
- Sclerodactylia / duzzadt, ödémás ujjak / bőrfekélyek / csillag alakú ujjbegyhegek.
- Mással nem magyarázható emelkedett We / CRP érték.
- Pozitív anti-nucleáris antitest teszt (homogén, kispettyes, nucleoláris, anti-centromer festődési mintázattal) / pozitív specifikus autoantitest próba (anti-dsDNA, anti-SS-A, anti-Rnp, anti-centromer, anti-topoizomeráz I, ismételten pozitív anti-cardiolipin IgG / IgM).
- Scleroderma kapilláris mintázatnak megfelelő kép az ujjbegy kapilláris mikroszkóp vizsgálata során.

Nem differenciált kollagenózis diagnózisa felállítható, ha legalább egy fő kritérium és még legalább három másik (fő és/vagy további) tünet egyszerre megállapítható. A diagnózis felállításához szükséges továbbá az is, hogy más, definitív kötőszöveti betegség (pl. SSc, SLE, RA, primer SS, DM/PM, MCTD) diagnosztikus kritériumainak ne feleljen meg a beteg.

86 Raynaud szindrómás nőbeteg szintén kitöltötte a kérdőíveket. LeRoy és Medsger által leírt tünetek alapján állapítottuk meg a Raynaud szindrómát: periódikus acrális szimmetrikus elfehéredés és/vagy cyanosis jól tapintható perifériás pulzusok mellett [147]. A 25 primer Raynaud szindrómás nőbeteg mellett, akik sem egyéb klinikai, sem laboratóriumi jelét nem mutatták egy szisztémás autoimmun kórkép jelenlétének, az úgynevezett szekunder Raynaud szindrómában szenvedő betegeket is bevettük vizsgálatainkba: Hatvanegy olyan nőbeteg esetén is elkészítettük a felmérést, akik a Raynaud tünet mellett vagy antinukleáris antitest pozitívak voltak, vagy kapilláris mikroszkóp vizsgálat során sclerodermára jellemző mintázatot észleltünk, vagy kézujjain trofikus zavar jelei látszóttak (gangréna, csillag alakú hegek). Ezen betegek sem mutattak belsőszervi érintettségre (tüdőfibrozis, nyelőcső dysmotilitás, stb.) utaló jeleket.

A kontrollcsoportot a betegek két csoportjának segítségével hoztuk létre. Az egyik csoportot azok a nőbetegek képviselték, akik szoliter vese miatt jártak egyetemünk nephrológiai szakrendelésére. Ebbe a csoportba csak azon betegeket vettük be, akik veséjüket nem malignoma miatt vesztették el. A másik részét a csoportnak azok a nőbetegek alkották, akik egyetemünkön diabetológiai gondozásra jártak kettes típusú cukorbetegség miatt. A két eltérő betegcsoportra az életkori egyeztetés miatt volt szükség az egyes vizsgálati betegcsoportok és a kontrollok között. Általánosságban mondhatjuk, hogy a szoliter vesével rendelkezők a fiatalabb, a kettes típusú cukorbetegség pedig az idősebb csoportját alkották a kontrolloknak. Az életkori egyeztetés mellett a vizsgált csoportok összetétele hasonló volt iskolázottság és lakóhelyük tekintetében is.

A vizsgálati csoportokba csak olyan személyt vettük be, akinek alapvető klinikai és laboratóriumi adatai rendelkezésünkre álltak. A kérdőíven kitértünk az oldószerezpozíció

részletes kikérdezése mellett a korábbi munkahelyekre is. A szerves oldószerekről melléeltünk egy listát is, mely nemcsak az adott szer nevét, hanem azon összetett anyagok nevét is tartalmazta, amiben az a leggyakrabban fordul elő. A kitöltött és visszaérkezett kérdőívek aránya 90% felett volt. Azokban az esetekben, ahol a kérdőív alapján felmerült a szerves-oldószer expozíciónak a lehetősége, ott egy ismételt, az adott esetre egyénileg megfogalmazott levelet küldtünk el, melyben tisztázni próbáltuk az előző válasz alapján bizonytalanok ítélt pontokat. Azokat az eseteket, melyek ezek után is bizonytalanok voltak az expozíciót illetően, a továbbiakban mint expozíciónak nem kitett eseteket kezeltük.

Fisher-féle próbát használtuk a csoportok összehasonlítására. Yate-féle korrekciót is alkalmaztunk a szükséges esetekben.

4.2. NDC-os betegek klinikai/laboratóriumi vizsgálata

Kilencvenkettő NDC-ben szenvedő, 1995. és 2000. között munkacsoportunk által gondozásba vett beteg klinikai/laboratóriumi vizsgálatát végeztük el. Az első osztályos bennfekvés alkalmával standard protokollt használva feljegyeztük a beteg demográfiai adatait, klinikai és munkahelyi történetét, fizikális és laboratóriumi vizsgálatának eredményeit.

A NDC diagnózisát a korábban már említett saját kritériumrendszer segítségével állapítottuk meg (**1. táblázat**) [19].

Raynaud szindrómát akkor állapítottunk meg, ha a legalább 2 tünetet egyértelműen és tartósan fel lehetett ismerni a hideg hatásra jelentkező 3 jellemző színváltozással járó fázis közül. Azon eseteket, akiknél mechanikus kompressziós szindrómát, hyperviscositást, szívelégtelenséget, hypothyreoidizmust is

megállapítottunk, kizártuk a további vizsgálatokból. Körömágy kapilláris mikroszkópiát, mellkas röntgen-felvételt, légzésfunkciós és diffúziós kapacitás méréseket és EKG-t minden esetben készítettünk. A mellkas röntgen-felvételeket minden esetben ugyanaz a gyakorlott pulmonológus véleményezte (ZH). Schirmer tesztet szintén minden esetben rutinszerűen végeztünk. Azon esetekben, ahol a tünetek megfelelhetek polyneuropathiának, elektrofiziológiai vizsgálatokat végeztünk.

A körömágy kapilláris mikroszkópiás vizsgálatát minden beteg esetén ugyanaz az immunológus végezte el (NZ). A kapillárisok scleroderma-mintázatát, illetve az SLE-ben megfigyelhető kapilláris-mintázatot szintén vizsgáltuk [148,149].

A laboratóriumi vizsgálatok tekintetében minden beteg esetén meghatároztuk a süllyedést, a CRP-t, a rheumatoid faktort és az anti-nukleáris antitest tesztet HEp-2 sejteken. Az anticentromer antitestet HEp-2 sejteken indirekt immunfluorescens módszerrel határoztuk meg. Továbbá ELISA technikával vizsgáltuk az anti-dsDNA, anti-Rnp anti-Sm, anti-SS-A, anti-SS-B, anti-topizomeráz-I, anti-cardiolipin IgG és IgM anitestek szintjét. Vizeletvizsgálatot (proteinuria, haematuria, cylinderek) és a leukopenia/thrombocytopenia irányába történt méréseket szintén minden esetben elvégeztük. Emelkedett We értéket akkor állapítottunk meg, ha legalább 6 héten át 40 mm/h fölötti süllyedést mértünk minden egyéb ismert ok nélkül.

Azon betegeket, akik a fenti kritériumoknak teljes mértékben megfeleltek, két alcsoportra osztottuk. Azok az esetek képezték az első csoportot, akik állapotát – más okkal nem magyarázható - polyarthritisük remissiója és exacerbatiója jellemezte, gyulladással kísérvé. A betegek második csoportját azok a megmaradt esetek alkották, akiknél sem polyarthritist, sem jelentősebb gyulladással jeleket nem észleltünk. Raynaud szindróma és/vagy tüdőfibrózis gyakran fordult elő ebben a második

csoportban.

Azokat a betegeket, akik teljes mértékben megfeleltek más definitív kötőszöveti betegség kritériumának is, beleértve a SSc-t, az SLE-t, a DM/PM-t, a RA-t, SS-t és a MCTD-t, kizártuk vizsgálatunk további menetéből.

4.3. Az alveolitisz gyakoriságának és típusának vizsgálata szisztémás autoimmun kórképekben

4.3.1. A BAL folyadék sejtösszetételének és az alveolitisz gyakoriságának meghatározása

Az alveolitisz típusának és a monocita influx nagyságának meghatározása céljából bronchoalveoláris lavage vizsgálatokat végeztünk. Olyan betegek esetén határoztuk meg a tüdőmosó-folyadék sejt-összetételét, akik esetén a mellkas röntgen, a légzésfunkciós paramétereik és a HRCT vizsgálat alapján alveolitisz lehetősége felmerült [19].

A betegek fizikális vizsgálatát és mellkas röntgenfelvételének értékelését tapasztalt pulmonológus végezte (ZH). Tüdőérintettséget bibasiláris, vagy diffúz fibrózis esetén véleményyeztünk. A légzésfunkciós méréseket követően (System 2800 Whole Body Plethysmograph, Sensor Medics, USA) restriktív légzészavart állapítottunk meg, ha az inspiratórikus vital kapacitás /IVC/ és a teljes tüdő kapacitás /TLC/ kevesebb volt mint a várható normál érték 80 százaléka. Diffúziós zavart akkort állapítottunk meg, ha a diffúziós kapacitás /DLCO/ és a diffúziós koefficiens /DLCO/VA/ kevesebb volt, mint a várt normált érték 80 százaléka. A minőségi ellenőrzést és a normál értékek

meghatározását az European Community of Coal and Steel ajánlásának megfelelően végeztük [150].

A fenti vizsgálatok alapján pulmonális érintettséget mutató betegeket HRCT segítségével vizsgáltuk tovább [4,151]. A vizsgálatokat harmadik generációs nem-spirál computer tomograph (Siemens Somatom AR HP) készülékkel végeztük kontrasztanyag adása nélkül 2 mm-es szeleteket vizsgálva 10 mm-ként. A tejüveghomály és a tüdőfibrózis jelenlétének, illetve kiterjedésének vizsgálatát 2 tapasztalt radiológus (JE, DK) egymástól függetlenül, párhuzamosan végezte. A megfigyelések között kevesebb, mint 5 % volt a különbség.

Harminckilenc olyan NDC-os [19] és harmincöt SSc-os [142] beteget vettünk be kezdetben a vizsgálatba, akik vagy nem dohányoztak, vagy legalább 4 hónappal a tervezett BAL vizsgálat előtt abbahagyta a dohányzást. HRCT vizsgálatot 24 NDC-os betegnél végeztünk, akik esetén legalább enyhe kétoldali bazális reticuláris, vagy reticulonoduláris rajzolatfokozódást mutatott a mellkas röntgenfelvétel, vagy csökkent diffúziós kapacitás értékeket észleltünk a légzésfunkciós vizsgálatok során. Hét betegünk kezdett el ismét dohányozni. A fennmaradó 17 eset közül 13 betegünk egyezett bele a bronchoalveoláris lavage vizsgálat elvégzésébe. Mind a 13 beteg nő volt, átlagos életkoruk $48,1 \pm 6,6$ év volt. Az átlagos betegség fennállás $1,8 \pm 0,8$ év volt. Polyarthritis/artralgia 9, Raynaud szindróma 12, csökkent könnytermelés 9 esetben fordult elő. Nyelőcsőérintettséget és perifériás neuropathiát 1-1, alopeciát 2 betegünkönél figyeltünk meg. Sem vese-, sem szív-, sem bőrtüneteket nem észleltünk egyik betegünkönél sem. Gyorsult süllyedést 3, pozitív antinukleáris antitest vizsgálatot 6 esetben állapíthattunk meg. Kapilláris mikroszkópiával 2 betegünk körömágyképe mutatott sclerodermára jellemző képet. Mind a 13 beteg mellkas röntgenfelvételén pulmonális fibrózisra utaló jelek

voltak láthatóak. A HRCT képeken 12 esetben észleltünk tejüveghomályt, míg a fibrózis jelenlétét minden esetben megerősítette a vizsgálat. Lépesméztüdő képét egy beteg felvétele mutatta.

A harmincöt SSc-os betegünk közül 28 esetben végeztük el a HRCT vizsgálatot pulmonális érintettség miatt. 10 esetben a BAL vizsgálatot nem végeztük vagy a magas életkor (>60 év), vagy a hosszú betegségfennállás (>10 év) miatt. 2 esetben jelentős ischémias szívbetegség miatt tekintettük el a vizsgálat elvégzésétől. Egy beteget kizártunk a továbbra is folytatott dohányzás miatt. 4 betegünk nem egyezett bele a BAL vizsgálat elvégzésébe. Betegeink között 9 nő és két férfi volt. Az átlagos életkoruk $48,5 \pm 8,4$ év volt. Az átlagos betegség fennállás $5,1 \pm 4,0$ év volt. 7 beteg tartozott a lcSSc, 4 beteg pedig a dcSSc alcsoportba [83]. Négy betegnél fordult elő nyelőcső dysmotilitás, nyolc betegünk pedig sicca-tüneteket is mutatott. Egy-egy betegünkönél voltak szívérintettségre, illetve myositisre utaló jelek, míg veseérintettséget egyik betegünk sem mutatott. Hat betegnél találtunk tipikus scleroderma kapilláris rajzolatot a körömágy mikroszkópos vizsgálata során. Tíz beteg mellkas röntgenfelvétele mutatott tüdőfibrózist, míg a HRCT képek mind a 11 beteg esetén alátámasztották a diagnózist. A felvételek alapján két esetben súlyos mértékű volt a fibrotikus elváltozás. A 11 beteg közül 9 esetben észleltünk a HRCT képeken kétoldali tejüveghomályt.

Öt egészséges, nem dohányzó személy BAL vizsgálatát is elvégeztük, akik a mellkas röntgenfelvételeken nem mutattak parenchymás eltérést. Hárman voltak közülük nők, ketten férfiak. Az átlagos életkoruk $23,0 \pm 2,0$ év volt.

Egy másik vizsgálatunk kapcsán 8 DM/PM-ben szenvedő beteg BAL vizsgálatát is elvégeztük [20]. Mindegyik beteg teljesítette a diagnosztikus kritériumokat [145], s a diagnózist minden esetben izombiopsziával is alátámasztottuk. Az átlagos életkor $48,6 \pm$

8,5 év volt. Mind a dermatomyositis, mind a polymyositis diagnózisát 4-4 beteg esetén állíthattuk fel. Anti-Jo-1 antitest pozitivitást 3 betegünk vizsgálata során mutattunk ki. Az alkalmazott kezelés (4-36 mg/nap methylprednisolon p.o., egyes esetekben azathioprinnel kombinálva) révén a BAL vizsgálat időpontjában izomtűneteket nem észleltünk.

A BAL vizsgálatot standard fiberoscopos eszközzel végeztük a középsőlebeny egy subsegmentális bronchusába ékelve az eszközt. Ezt követően 40 ml szobahőmérsékletű fiziológiás konyhasóoldatot fecskendeztünk be, majd szívunk finoman vissza 50 ml-es fecskendőket használva 5 egymást követő alkalommal. A visszanyert mennyiség $60\pm 14\%$ volt NDC-ben, $58\pm 21\%$ SSc-ban és $82\pm 3\%$ a kontroll csoportban. A visszanyert folyadékot enyhén alkalizáltuk NaHCO_3 hozzáadásával. A mintákat a lehető leggyorsabban feldolgoztuk, gézlapon átszűrtük, majd centrifugáltuk (400g, 4°C, 15 min.). Az üledéket használtuk fel további vizsgálatok céljára. A viabilitást trypan-kék festéssel állapítottuk meg, ez mindig 95% felett volt, vérrel szennyezett minta nem volt. A sejteket tárgylemezre ülepítve May-Grünwald-Giemsa festést használtunk a sejtarányok megállapítása céljából.

Limfocitás, illetve granulocitás típusú alveolitiszt akkor állapítottunk meg, ha az adott sejtpopuláció abszolút sejtszáma a BAL folyadékban emelkedett volt a kontrollokéhoz képest (nagyobb, mint a kontrollok átlaga plussz kétszeres szórás).

4.3.2. Limfocita szubpopulációk meghatározása áramlási citométerrel

A tüdőmosó-folyadék limfocita alcsoportjait áramlási citométerrel [152], hármas sejtfelszíni jelölést alkalmazva határoztuk meg fluorescensen jelölt monoklonális antitestek (anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8) segítségével [19].

A BAL folyadékból a fenti módon gyűjtött sejteket kétszer mostuk, illetve centrifugáltuk (250g, 5 min, 4°C) ún. jelölő oldatban. A jelölő oldat Ca^{2+} -t és Mg^{2+} -t nem tartalmazó foszfátpuffer /PBS/, mely 0,1% (w/v) borjú szérumalbumint /BSA/ és 0.1% (w/v) Na-azidot tartalmaz (pH=7.4). A sejteket 4°C-on, sötétben inkubáltuk korábban meghatározott optimális mennyiségű fluorochrome festékkel jelölt antitestekkel 30 percen át. A jelölő oldat 100 ml-ében 5×10^5 sejtet szuszpendáltunk fel, amihez a T-setek subpopulációinak meghatározására a következő egér anti-humán antitesteket adtuk hozzá: CD3 PE-Cy5, CD4 FITC, CD8 PE (mindegyik antitestet a francia Immunotech állította elő). Izotípus kontrollként IgG1-FITC, IgG1-PE, IgG1 PE-Cy5 antitesteket alkalmaztunk (Immunotech, Franciaország). Az inkubációs idő letelte után jelölő oldattal mostuk a sejteket, majd a centrifugálás (250g, 5 min, 4°C) után a reszuszpendált sejteket 1% formaldehidet tartalmazó PBS-ben fixáltuk.

A sejteket áramlási citométerrel vizsgáltuk tovább (FACSCalibur, Becton Dickinson), míg a mérési adatok elemzését CellQuest program segítségével végeztük. A limfociták elkülönítésére a fizikai paramétereket használtuk fel (forward scatter/side scatter). A limfocitákon belül a T-sejtek elkülönítésére FLIII./cell count histogramot használtuk. Az így kiválasztott sejteket tovább analizáltuk a CD4, illetve CD8 jelölődésüket illetően: a CD4+/CD8- és a CD4-/CD8+ T-sejtek arányát quadráns statisztikával határoztuk meg. Minden esetben 5000 T-sejt elemzését végeztük el.

Nonparametrikus Mann-Whitney U-tesztet használtuk az egyes csoportok kvantitatív eredményeinek összehasonlítására.

4.3.3. Az alveoláris makrofágok proliferációs aktivitásának meghatározása

Az alveoláris makrofágok proliferációját immuncitokémiával, streptavidin-biotin-peroxidáz módszert használva a Ki-67 proliferációs sejtmag antigén jelölésével határoztuk meg [153].

Összesen 32 beteg vett részt ebben a vizsgálatunkban 3 vizsgálati csoportban. A myositises csoportban (DM/PM-es, illetve scleroderma-myositis overlap szindrómás betegek) mind 11 beteg a megfelelt a DM/PM kritériumainak [145]. A diagnózist elektromyographiával és izombiopszával is alátámasztottuk minden esetben. Az átlagos életkor $45,1 \pm 11,5$ év volt. Az átlagos betegség fennállás $1,6 \pm 1,1$ év, az átlagos követési idő pedig $0,6 \pm 0,7$ év volt. Három betegnek dermatomyositise, 3-nak polmyositise és három betegnek scleroderma-myositis overlap szindrómája volt. Egy esetben a gyulladós izombetegség mellett a méh cervicalis carcinómája is diagnosztizálásra került. Egyetlen egy beteg sem mutatott átfedő tüneteket lupus irányába. A betegeinket napi 4-36 mg p.o. methylprednisolon és 50-100 mg p.o. azathioprin kezelést adtunk a vizsgálat időpontjában.

A SSc-os betegek csoportjában 11 beteg vizsgálatát végeztük el, mindegyik beteg megfelelt az ARA kritériumoknak [154,142]. Hat beteg tartozott a lcSSc-os, míg 5 beteg a dcSSc-os alcsoportba. A betegek átlagos életkora $44,9 \pm 11,1$ év volt. Az átlagos betegségfennállás $3,4 \pm 3,7$ év volt. A férfibetegek száma ebben a vizsgálatban 3, a nőbetegeké pedig 8 volt.

A NDC diagnózisát a már említett kritériumrendszerünk segítségével állapítottuk meg [19] **(1. táblázat)**. A 10 vizsgált nőbeteg átlagos életkora $49,8 \pm 8,2$ év volt. Az átlagos betegségfennállás $1,3 \pm 0,9$ év volt.

Kontrollként a már fent leírt egészséges személyek BAL folyadékából nyert sejteket használtuk fel.

A BAL vizsgálatot, illetve a BAL folyadékból a sejtek összegyűjtését a fent leírt módon végeztük el. A tárgylemezre ülepített sejteken elvégzett immunocitokémiai vizsgálatok során streptavidin-biotin-peroxidáz módszert alkalmaztunk (Universal Kit, Immunotech, Franciaország) [155]. Az alábbi monoklonális ellenanyagokat használtuk: CD11a (klón: G25.2, Becton Dickinson, USA), CD11b (klón: D12, Becton Dickinson, USA), Ki-67 (klón: MIB-1, Immunotech, Franciaország).

A Ki-67, a CD11a és a CD11b pozitív nagy alveoláris makrofágok megszámlálását két személy (MT, KG) egymástól függetlenül, vakon végezte. A kis, monocita-szerű sejteket nem vettük be a vizsgálatba. A vizsgálók minden esetben 200 makrofágot számoltak meg. A vizsgálók közötti eltérés kevesebb, mint 5% volt.

A vizsgálati csoportok adatainak összehasonlítására Mann-Whitney U-tesztet használtunk. A Pearson-féle korreláció-tesztet és a Fisher-tesztet szintén használtuk.

4.3.4. Alveoláris makrofágok funkcionális vizsgálata SSc-ban

A vizsgálatban 15 SSc-os nőbeteg vett részt. Minden beteg megfelelt az ARA kritériumoknak [142]. Az átlagos betegség fennállás $6,5 \pm 4,4$ év volt, a betegek átlagos életkora $47,2 \pm 10,6$ év volt. 10 beteg tartozott lcSSc, illetve 5 beteg a dcSSc csoportba. Hét beteg esetén mutattunk ki nyelőcső dysmotilitást, 5 betegnek voltak sicca tünetei. Subcutan calcinózist 2 betegnél, veseérintettséget 1 betegnél észleltünk. A betegek közel a felének (7 beteg) voltak szívérintettségre utaló eltérései. Mind a 15 beteg esetén pulmonális érintettséget is kimutattunk. Myositis is előfordul két betegünkönél a betegség lefolyása során. Tizennégy beteg számolt Raynaud szindrómára utaló panaszokról, s 14

betegnél észleltünk ANA pozitívítást HEp-2 sejteken. Anticentromer antitest pozitívítást 1, míg anti-Sc1-70 antitest pozitívítást 7 esetben mutattunk ki ELISA teszt segítségével (Progen Biotechnik GMBH, Németország). Négy egészséges személy esetén is elvégeztük az alábbi vizsgálatokat.

Perifériás vér monocita sejtjeinek izolálását Nagakawa és munkatársai által közölt módszer módosításával végeztük el [156]. Ficoll-Uromiro gradiens-centrifugálást követően a tenyésztő flaska aljára kitapadó sejteket Parker-féle mediumban szuszpendáltuk fel. Trypan-kék festéssel a viabilitás 95-98% között mozgott. A betegek BAL folyadékából a fent leírt eljárásokkal izoláltuk az alveoláris makrofágokat. A további vizsgálatokat mindkét sejtcsoport esetén azonos módszerrel végeztük el.

A mononukleáris sejtek élesztőfagocitózisát 9x9 mm-es fedőlemezen vizsgáltuk. A sejteket (10^6 sejt 100 μ l tápfolyadékban) rétegeztük fedőlemezre, majd 30 perc szobahőn történő inkubálást követően a non-adherens sejteket lemostuk a lemezről. Következő lépésben 6×10^6 élesztősejtet (*Sacharomyces cerevisiae*) rétegeztünk a fedőlemezre, 400 μ l tápfolyadékban. Termosztátban történt inkubációt követően (37 C°, 60 min., 5% CO₂ és telített páratartalom mellett) ismételt mosás után az eredményt mikroszkóp alatt olvastuk le.

200 mononukleáris sejtet számoltunk le, miközben meghatároztuk a fagocitózis indexet (PI): a fagocitált élesztők számát osztottuk a megszámlált mononukleáris sejtek számával [156]. Ezeket a vizsgálatokat opszonizált élesztőkkel is elvégeztük. Az opszonizálást gyűjtött, kevert humán szérumban végeztük (3×10^6 élesztő 2 ml szérumban) [156].

A mononukleáris sejtek Fc-receptor aktivitását opsonizált birka vörösvértestek kötésével vizsgáltuk. Az opsonizációhoz szükséges IgG frakciót patkány anti-birka vörösvértest szérumból izoláltuk Sephadex G-200 oszlopon. Az adherens mononukleáris sejteket 37° C-on fél óráig inkubáltuk az opsonizált vörösvértestekkel. Mosást követően megszámláltuk azon mononukleáris sejtek arányát, melyek vagy felszínükön, vagy fagocitált állapotban minimum 3 vörösvértestet kötöttek meg [156].

A kemotaxis vizsgálat során Boyden által leírt módszer módosított változatát használtuk [156]. A kísérlet során zymozán aktivált szérumot és 5 µm-es pórusú millipore filtert használtunk. A feltöltést követően 90 perig, 37 C° inkubáltuk a sejteket. A filter hematoxylin-eosin festését követően a vándorló sejtek elmozdulását µm-ben adtuk meg.

4.3.5. Citokinvizsgálatok szisztémás autoimmun kórképekben

4.3.5.1. Szekretált proinflammatorikus citokinek vizsgálata BAL folyadékban

Az alveoláris makrofágok funkcionális vizsgálatát proinflammatorikus citokinjeinek spontán, illetve aktivációt (PMA) követő termelésének vizsgálatával folytattuk [41]. 5×10^5 mononukleáris sejtet rétegeztünk egy 9x9mm-es fedőlemezre 1 ml RPMI 1640 (Flow) mediumban, mely 10% hőinaktivált FCS-t és 200mM L-glutamint tartalmazott. Egy órás CO₂ thermostatban (ASSAB, Svédország) történt inkubációt (5% CO₂, 60min, 37°C) követően a non-adherens sejteket lemostuk, majd friss tápfolyadékot rétegeztünk a megmaradt sejtekre. A minták egy részéhez PMA-t (1 µM, Sigma) adtunk annak érdekében, hogy a spontán citokintermelés mellett a sejtaktivációt követő citokintermelést is meghatározhassuk. A sejteket egy éjszakán át inkubáltuk CO₂ thermostatban (37°C). Másnap a sejteket centrifugálással (400g, 4°C, 10min) eltávolítottuk a mediumból, majd a

felülúszó folyadékot azonnal lefagyasztottuk -80°C -ra. Mind az IL-6, mind a TNF- α szintjét a felülúszó folyadékban ELISA-teszttel határoztuk meg (Predicta, Genzyme, Cambridge, MA, USA).

4.3.5.2. Intracitoplazmatikus citokin vizsgálatok

Az intracitoplazmatikus citokintermelés kimutatására 6 paraméteres áramlási citometriát alkalmaztunk [157]. A fizikai paraméterek (sejtnagyság, granularitás) révén határoztuk meg az egyes sejttípusokat (limfocita, granulocita, alveoláris makrofág), illetve kettős sejtfelszíni jelölést végeztünk az egyes szubpopulációk meghatározására (például anti-CD3, anti-CD4 antitestekkel), majd további direkt jelölt monoklonális antitest(ke)t használtunk a termelt citokinek (például anti-IL-4, anti-INF- γ antitest) intracitoplazmatikus detektálására. Hasonló módszert használtunk az alveoláris makrofágok citokintermelésének (IL-12, IL-10, TNF- α) meghatározására is.

4.3.5.2.1. Immunszuppresszív kezelés hatásának vizsgálata Wegener granulomatózisban

A Wegener granulomatózissal foglalkozó vizsgálatunkban 6, klinikailag aktív beteg vett részt. Mindegyik beteg teljesítette az ACR [158], illetve a Chapel Hill [159] kritériumokat. Mindegyik beteg C-ANCA és PR3-ANCA pozitív volt. A betegség aktivitását az úgynevezett Disease Extension Index /DEI/ [160] és Birmingham Vasculitis Activity Score /BVAS/ [161] alapján határoztuk meg. Egyik beteg sem kapott a vizsgálatba vétele előtti 6 hónapban cyclophosphamid /CPH/, illetve csak 1 beteg kapott

közepes dózisú methylprednisolon /MP/ kezelést. Két beteg állt methotrexat, 1 beteg pedig trimethoprim-sulphamethoxazol kezelés alatt a relapszusát megelőzően. Az aktív betegség megállapítását követően minden beteg esetén standard p.o. CPH + MP kezelést alkalmaztunk: napi 2mg/tskg CPH-ot, illetve 1mg/tskg MP-t adtunk. A 6 vizsgált beteg között 3 nő és 3 férfi volt. Az átlagos életkor $58 \pm 14,7$ év volt. Kilenc egészséges személy esetén is elvégeztük a vizsgálatokat. Közöttük a férfi:nő arány 2:7 volt, az átlagos életkoruk pedig $38,3 \pm 12,9$ év volt. A betegek esetén a standard CPH + MP kezelés megkezdése előtt, majd 2 hét kezelés után is vettünk vérmintát a vizsgálatok elvégzése céljából. A vizsgálat 2. hetében újra értékeltük minden beteg esetén a WG aktivitását.

A heparinizált perifériás vérmintákat (150 ml) 850 ml tápfolyadékban (RPMI 1640, 10% hőinaktivált FCS, 5mM L-glutamin, 50 U/ml penicillin, 50mg/ml streptomycin, Sigma) hígítottuk. A monociták citokintermelésének meghatározása érdekében a sejteket vagy csak a tápfolyadékban, vagy az ahhoz hozzáadott LPS-sel (100 ng/ml, Sigma) együtt inkubáltuk 20 órán át thermostatban (37°C , 5% CO_2 , telített páratartalom mellett). A limfociták citokintermelésének meghatározása céljából a sejteket vagy csak a tápfolyadékban, vagy PMA (10ng/ml, Sigma) és Ionomycin ($2\mu\text{g/ml}$, Sigma) hozzáadása mellett inkubáltuk (6 óra, 37°C , 5% CO_2 , telített páratartalom) thermostatban. Minden csoport tápfolyadéka Golgi-apparátus gátlót (Monensin, $2\mu\text{M}$, Sigma) tartalmazott.

4.3.5.2.2. ANCA hatása a makrofágok citokin termelésére

Az ANCA patogenetikai szerepének vizsgálata során is végeztünk citokin vizsgálatokat. Ezen kísérletekben egészséges személyektől vett perifériás vérmintából

Ficoll-Paque (Pharmacia, Svédország) gradiens centrifugálással, illetve vörösvértest hypotóniás lízissel izoláltunk polimorfonukleáris /PMN/ sejteket. A sejtekben apoptózist indukáltunk (cycloheximid, 10 µg/ml, 18 óra). Az apoptózis mértéke áramlási citométerrel ellenőrizve 40-60% között volt minden esetben (AnnexinV-FITC és ToPro3 jelölés). Hat egészséges önkéntes személy perifériás véréből adherens mononukleáris sejteket izoláltunk, mely sejteket 8 napig inkubáltuk 10% human szérumot tartalmazó RPMI 1640 tápfolyadékban (37°C, 5% CO₂, telített páratartalom mellett, 24 lyukú tenyésztő edényben). Az inkubáció vége előtt egy órával a mononukleáris sejteket 3 csoportra osztottuk. Az első csoporthoz PR3-ANCA (10 aktív WG-ban szenvedő beteg véréből izolált (G-Sepharose, Pharmacia), nagy tisztaságú IgG) fedett (10 µg/ml PR3-ANCA preinkubációja 30 percen át 4°C-on) apoptotikus PMN sejteket (5×10^6 sejt/lyuk) adtunk. A 2. csoport mononukleáris sejthez olyan apoptotikus sejteket adtunk, amiket irreleváns IgG molekulákkal preinkubáltunk. A harmadik csoport mononukleáris sejthez tiszta apoptotikus PMN sejteket adtunk (preinkubációt üres tápfolyadékban végeztük). Az 1 óra inkubációt követően a nem fagocitált apoptotikus sejteket mosással eltávolítottuk, majd a sejteket 18 órán tovább tenyészettük. Minden csoport felének tápfolyadékába Golgi-apparátus gátlót (Monensin, 2 µM, Sigma) tettünk annak érdekében, hogy a citokinek exportját meggátoljuk. Az inkubáció letelte után a Golgi-gátló nélküli minták felülőszóját összegyűjtöttük ELISA mérések céljára, míg a Golgi-gátlóval inkubált sejteket áramlási citométeres mérésekre használtuk fel.

4.3.5.2.3. A sejtek többszörös fluorescens jelölése áramlási citométeres vizsgálatokhoz

Az áramlási citométeres vizsgálatokhoz mindkét WG-os kísérletünk során az alábbi eljárást követtük: Az inkubálást követően a sejteket két alkalommal mostuk jelölő oldattal (Ca^{2+} - és Mg^{2+} -mentes PBS, 0,1% BSA, 0.1% Na-azid, pH=7.4). A sejtfelszíni antigének meghatározására a fluorochrommal jelölt antitestetek előzetesen megállapított optimális mennyiségét használtuk. A jelölés 100 μl jelölő oldatban, jégen, fényvédelemben történt 30 perces inkubációval. Ismételt mosásokat követően a vörösvértesteket feloldottuk, a magvas sejteket pedig fixáltuk (FACS Lysing Solution, Becton Dickinson) a gyári előírásoknak megfelelően. Ismételt mosások után a sejtek membránját úgynevezett permeabilizáló oldat (Ca^{2+} - és Mg^{2+} -mentes PBS, 0,1% BSA, 0.1% Na-azid, 0,1% saponin (Sigma), pH=7.4) segítségével tettük átjárhatóvá a citoplazmatikus antigének kimutatására szolgáló fluorochrom jelölt antitestek számára. A sejteket 100 μl permeabilizáló oldatban inkubáltuk az antitestekkel (0,25-1,0 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$) a felszíni jelölés során alkalmazott körülmények között. Ismételt mosást (permeabilizáló oldatot használva) követően a sejteket saponinmentes, 1% formaldehidet tartalmazó PBS-ben tároltuk a mérésig (sötétkamrában, 4 °C). A mérést kétlézeres áramlási citométeren végeztük el (FACSCalibur, Becton Dickinson), az elemzéshez CellQuest programot használtunk.

A sejtfelszíni antigének direkt jelöléséhez a következő antitesteket használtuk: A limfociták subpopulációinak elkülönítésére egér anti-human CD45/CD19/CD16/CD56/CD3 (PerCP/APC/PE/PE/FITC), és egér anti-human CD45/CD3/CD8/CD4 (PerCP/FITC/PE/APC) négyes kombinációjú reagenseket alkalmaztunk. Az aktiváció mértékének

megítélésére anti-CD3 Cy-Chrome, anti-HLA-DR PE, anti-CD69 FITC antitesteket használtunk. A citokinmérések során a következő antitesteket használtuk: egér anti-human CD4 APC, anti-CD8 APC, anti-CD3 Cy-Chrome, illetve egér anti-human INF- γ /IL-4 (FITC/PE) kettős kombinációjú reagenst. Mértük még a limfociták intracitoplazmatikus citokintermelését anti-IL-2 FITC, anti-IL-5 FITC és anti IL-10 PE antitestekkel is. A monociták sejtfelszíni antigénjeinek meghatározására pedig egér anti-human CD14 APC, anti-HLA-DR FITC antitesteket alkalmaztunk. A monociták citokintermelésének meghatározására egér anti-human TNF- α PE, patkány anti-human IL-10 PE, IL-12 PE, IL-8 PE antitesteket használtunk. Mind ezen antitesteket, mind a szükséges izotípus kontrollokat a Becton Dickinson-tól vásároltuk.

A vizsgálati csoportok adatainak összevetését Mann-Whitney U-teszt, az egyes csoportok kezelés előtti és utáni adatainak összehasonlítását pedig Wilcoxon-féle teszt segítségével végeztük. A korreláció kimutatására Spearman-féle tesztet alkalmaztunk.

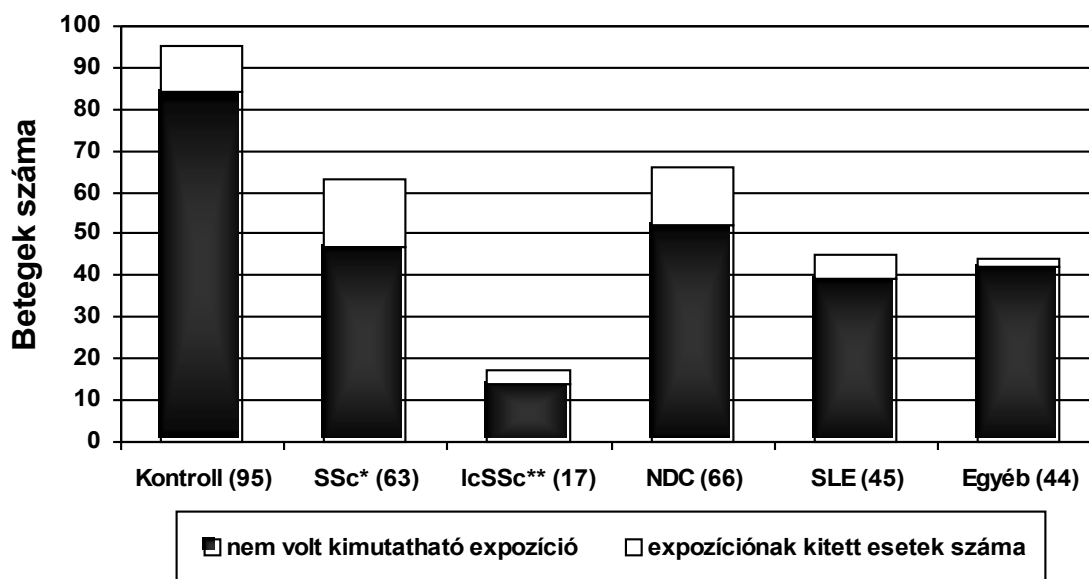
5. Eredmények

5.1. Szerves oldószer expozíció szignifikánsan magasabb arányban mutatható ki SSc-ban szenvedő nők kórtörténetében, mint a kontroll csoportban

Azon 63 SSc-os betegünk között, akik megfeleltek az ARA kritériumoknak 16 esetben rögzítettünk a felmérés során szerves oldószer expozíciót. A vizsgált kontroll személyek esetében ez az arány 11/95 volt. A két csoport közötti különbség szignifikánsnak bizonyult ($p < 0,05$) (**2. ábra**). A scleroderma-csoporton belül a lcSSc-os és a dcSSc-os betegek között nem észleltünk eltérést az expozíció arányában. Az anti-topoizomeráz és az anti-centromer antitest pozitív esetek száma nem mutatott jelentős eltérést az expozíciónak kitett csoportban a többi SSc-os esethez képest.

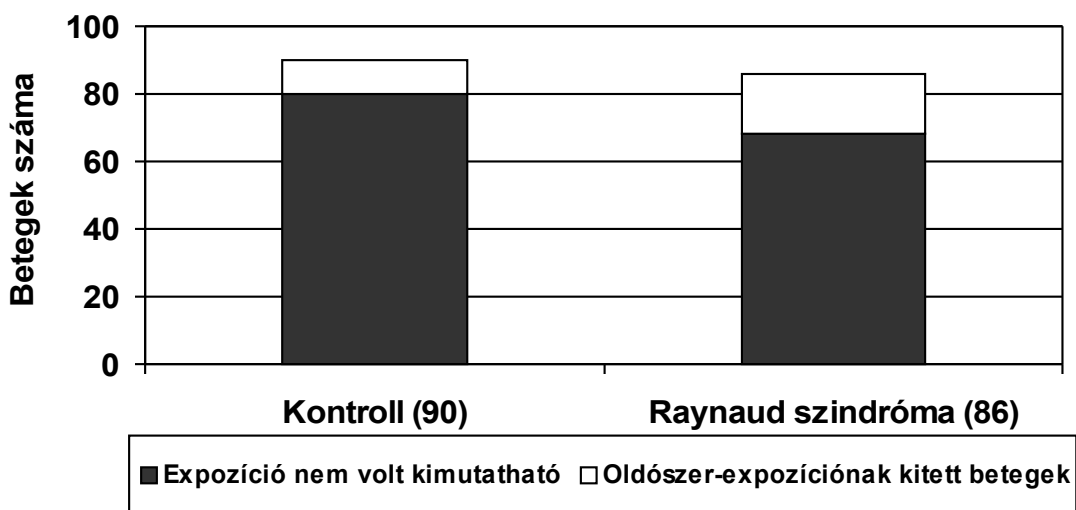
Szerves oldószer expozíció aránya azon lcSSc-os betegeink között, akik nem teljesítették az ARA kritériumokat, 3/17 volt. Ha ezen betegeket is bevettük a SSc-os csoportba, akkor a kontroll csoporthoz képest már nem észleltünk szignifikáns eltérést. A hatvanhat NDC-os beteg kórtörténetében 14 esetben volt kimutatható szerves oldószer expozíció. Ez az előfordulási arány a kontroll csoporttal összevetve nem mutatott szignifikáns különbséget. A többi betegcsoportban az expozíciónak kitett betegek aránya a következők szerint alakult: SLE-os betegek között 6/45, DM/PM-es betegek között 1/16, RA-es betegek között 1/15, míg a Sjögren szindrómás betegek között 0/13 arányban tudtunk szerves oldószer expozícióra utaló anamnesztikus adatot felvenni (**2. ábra**). Amikor ezen betegcsoportok adatait a kontroll csoport adataival összehasonlítottuk, nem kaptunk szignifikáns különbséget a vizsgált betegcsoportok között.

2. ábra: Szerves oldószer-expozíció előfordulása szisztémás autoimmun kórképekben



* $p < 0,05$. **lcSSc: azon lcSSc-os betegek, akik nem teljesítették az ARA kritériumokat.

3. ábra: Oldószer-expozíció előfordulása Raynaud szindrómás betegek esetén



A Raynaud szindrómás betegcsoport adatait vizsgálva hasonló eredményre jutottunk. A 86 megkérdezett beteg közül 18 válasza tartalmazott expozícióra utaló adatot. A korban egyeztetett kontroll személyek kérdőíves adatfeldolgozása során a 90 megkérdezett közül tíz válaszlevelet értékeltünk pozitívnak. Ezek alapján a szerves oldószer expozíció patogenetikai szerepe Raynaud szindróma kialakulásában nem bizonyítható **(3. ábra)**.

5.2. A pulmonális érintettség gyakori NDC-ban, de általában enyhe klinikai tünetekkel jár

A nem differenciált kollagenózis klinikai / laboratóriumi jellemzőinek elemzésekor a tüdőérintettség magas előfordulását sikerült kimutatnunk a klinikánkon gondozásba vett 92 NDC-os beteg vizsgálata során [162]. Mellkas röntgenfelvételen a betegek 51 százaléka kapcsán írtunk le tüdőfibrózisra utaló képet. A betegek többségénél igen enyhe, főként bazális elhelyezkedésű fibrózist diagnosztizáltunk, és mindössze az esetek 4 százalékában mutatott a röntgenkép közepes, vagy súlyos fokú reticulonodularis eltérést. A három vezető klinikai tünet aránya a mi betegcsoportunkban a következőképp alakult: Raynaud szindrómát a betegek 83, polyarthritist 61, illetve csökkent könnytermelést 36 százaléka esetén észleltünk. Alopecia 10 betegünkénél (10,9%) fordult elő. UV-fényérzékenységre jellemző panaszokat 12 betegünk (13%) említett, szájfekélyeket 4 betegünkénél (4,3%) észleltünk. Teleangiectasiát 18 betegünkénél (19,6%), bőrpigmentációs zavarokat 5 betegünkénél (5,4%) figyeltünk meg. Nyelőcső dysmotilitást 13 esetben (14,1%) mutattunk ki. Vese-érintettségre és myositisre utaló jeleket egyetlen betegnél sem észleltünk. Szív- és központi idegrendszeri érintettségre jellemző tüneteket extrém ritkán észleltünk **(4. ábra)**.

A laboratóriumi paraméterek közül a legmagasabb arányú eltérés az antinukleáris antitest pozitívitas volt, melyet 51 %-ban mutattunk ki. 3 betegünk volt anti-centromer antitest pozitív, s egy további betegünk tesztje mutatott anti-centromer és anti-nukleoláris pozitívítást egyszerre. Két további esetben figyeltünk meg anti-nukleoláris és kispettyes festődési mintázat együttes jelenlétét. 29 minta (31,5 %) esetén pettyes festődést állapítottunk meg. 6 további szérum (6,5%) mutatott homogén, míg 4 minta (4,3%) pedig nukleoláris mintázatot a HEp-2 sejtmagokon. A homogén mintázatú szérumok közül 2 esetben (2,2%) anti-dsDNA pozitívítást is megállapíthattunk. Tartósan emelkedett anti-cardiolipin szintet 23, anti-Scl-70 antitestet 9 százalékban észleltünk. Anti-SS-A pozitívítást 4 (4,3%), míg anti-SS-B pozitívítást 3 esetben (3,3%) észleltünk. Anti-Rnp antitestet 6 (6,5%), anti-Sm antitestet 2 esetben (2,2%) mutattunk ki. Anti-Jo-1 pozitív szérumot nem találtunk. Gyorsult süllyedést 24 betegünknel (26,1%) állapítottunk meg **(5. ábra)**.

Kapilláris mikroszkópos vizsgálatokkal sclerodermára jellemző mintázatot 18 beteg (19,6%) körömágy kapilláris vizsgálatánál észleltünk. Diffúz avaszkularitást 5 esetben (5,4%) észleltünk. Megnövekedett transzparenciát 7 (7,6%), bizarr alakú mintázatot 8 (8,7%), míg foltos avaszkularitást 2 beteg (2,2%) kapillárisképe mutatott. Ezen SLE-ban gyakori abnormalitások közül legalább egyet 11 betegnel észleltünk **(6. ábra)**.

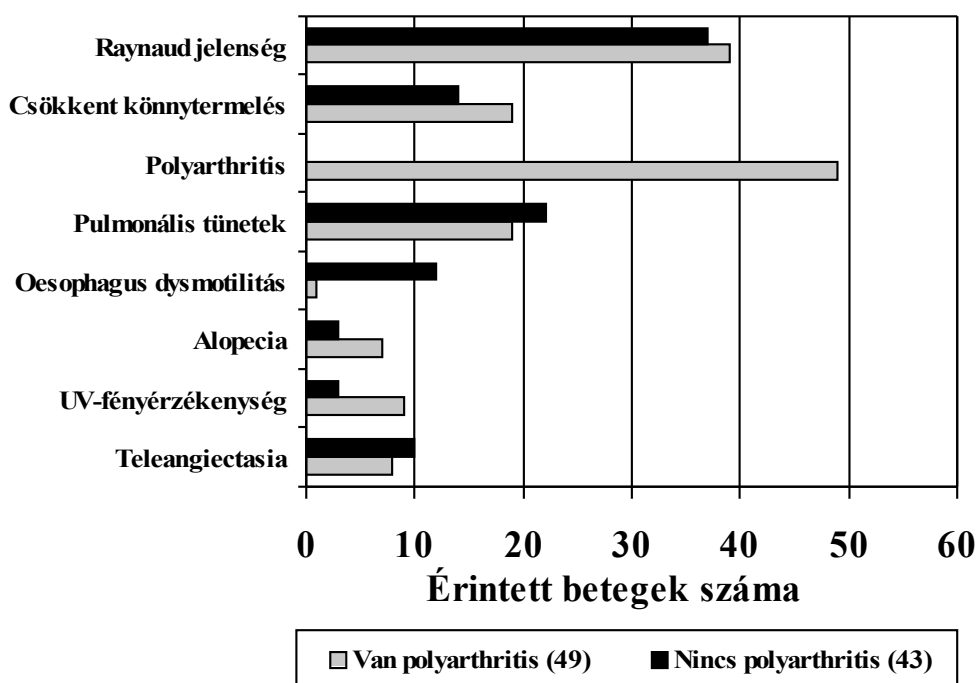
A két alcsoportnak megfelelően azon betegek, akikre polyarthritises tünetek hiánya volt a jellemző, általában magasabb arányban mutattak tüdő- és nyelőcső-érintettséget, illetve teleangiectasia szintén magasabb arányban fordult elő, mint azon betegeknel, akikre a polyarthritises volt jellemző **(4. ábra)**. Ezzel ellentétesen, a polyarthritises csoportban magasabb arányban észleltünk UV-fényérzékenységet és alopeciát, mint az első csoportban **(4. ábra)**.

A laboratóriumi tünetek közül mindkét alcsoportban specifikus antitesteket ritkán,

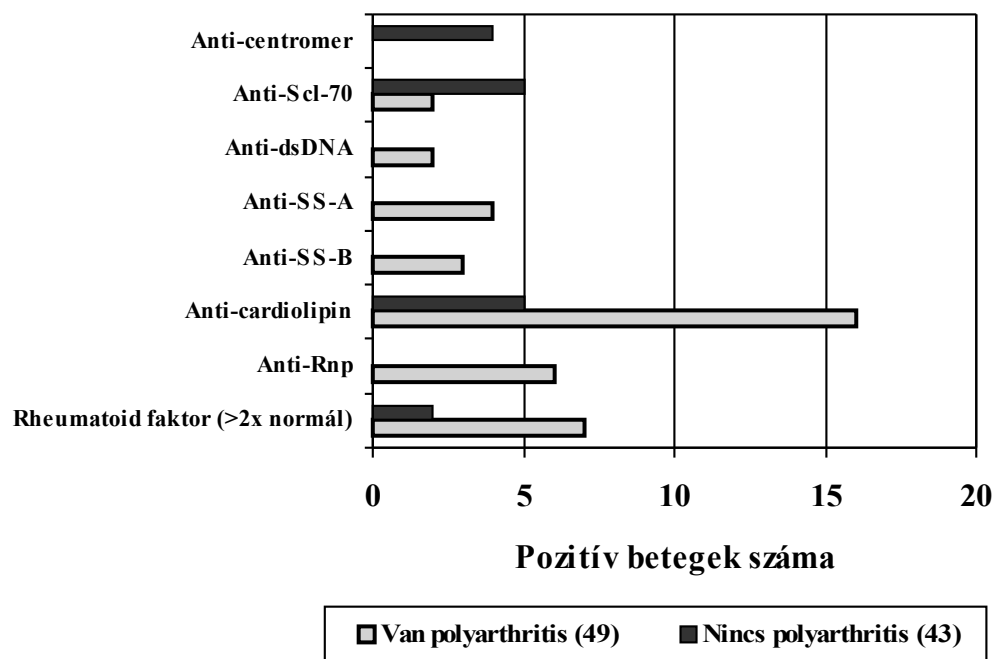
anti-Jo-1 antitestet egyáltalán nem észleltünk. A polyarthritises csoportban tartozó betegeknél esetenként előfordult az anti-dsDNA, anti-cardiolipin, anti-Rnp antitestek és a reumatoid faktor jelenléte. A polyarthritis nélküli betegek esetében mind ACA, mind anti-Scl-70 antitestet ki tudtunk – ha csak néhány esetben is - mutatni **(5. ábra)**.

Scleroderma kapilláris mintázatot a polyarthritis nélküli esetek körülbelül egy negyedében észleltünk. Diffúz avaszkularitást mindkét csoportban találtunk, de az SLE-ban megfigyelhető foltos avaszkularitást csak a polyarthritises csoportban észleltük **(6. ábra)**.

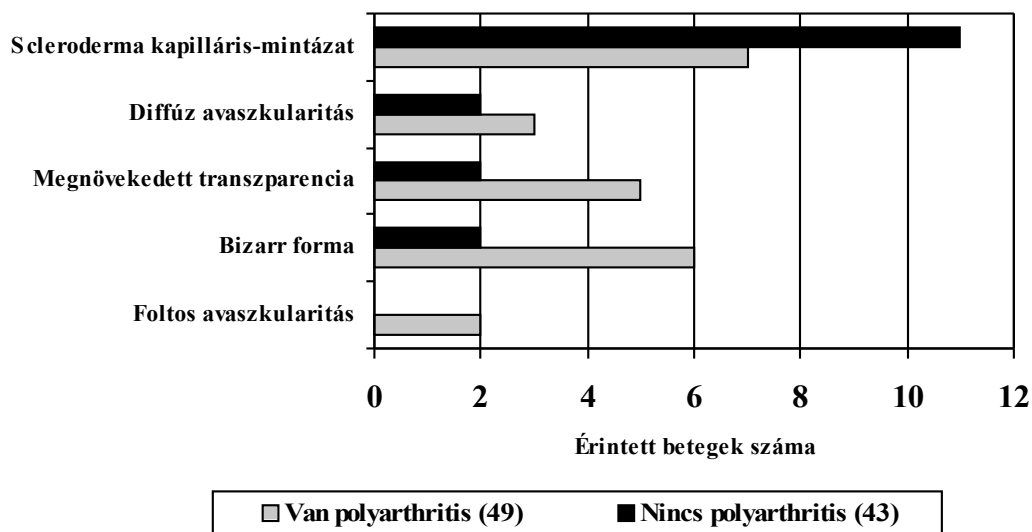
4. ábra: Nem differenciált kollagenózisban szenvedő 92 beteg főbb klinikai jellemzői



5. ábra: nem differenciált kollagenózisban szenvedő 92 beteg autoantitest profilja



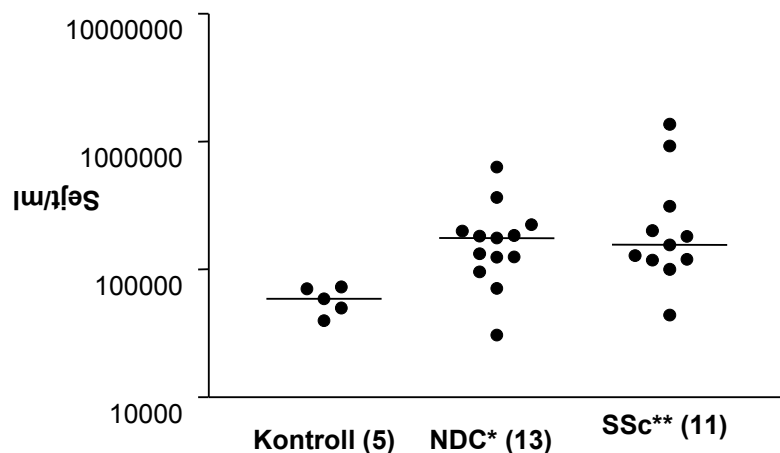
6. ábra: nem differenciált kollagenózisban szenvedő beteg kapillár-mikroszkópos vizsgálatainak eredményei



5.3. NDC-ban többnyire limfocitás alveolitisz figyelhető meg a SSc-ra, illetve a DM/PM-re jellemző granulocitás alveolitisszel szemben

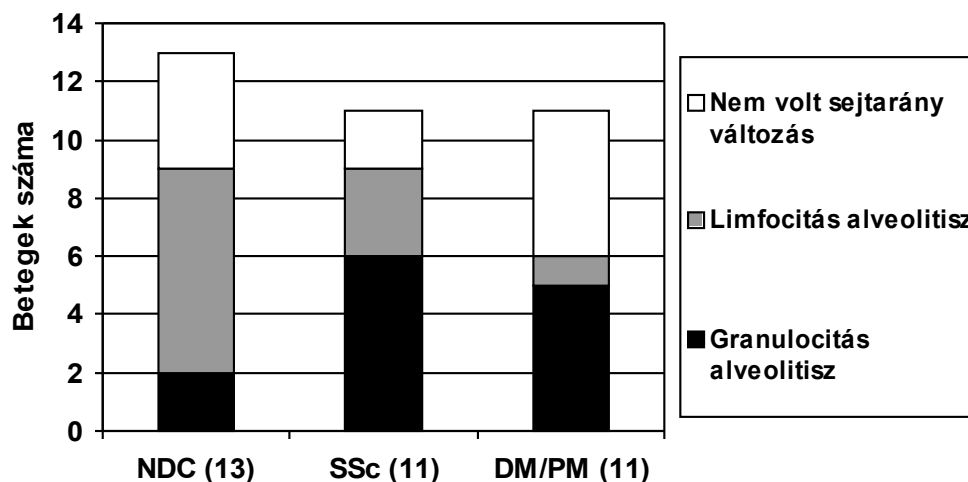
Az alveolitisz típusának meghatározása kapcsán azt találtuk, hogy NDC-ban a limfociták felszaporodása a jellemző [19]. Mind a NDC-os, mind a SSc-os betegek BAL folyadékában szignifikánsan magasabb volt a sejtek száma, mint a kontroll csoportban ($p < 0,05$, illetve $p < 0,01$, **7. ábra**). NDC esetén az átlagos sejtszám $1,8 \pm 1,6 \times 10^5$ sejt/ml volt. Ugyanezen adat a SSc-os, illetve a kontroll csoportban a következők szerint alakult: $1,6 \pm 4,2 \times 10^5$ sejt/ml, illetve $0,6 \pm 0,1 \times 10^5$ sejt/ml. A kontroll csoport kétszeres szórással növelt átlagához képest ezek alapján a NDC-ban szenvedő betegek közül 11 (85%), a SSc-os betegek közül pedig 10 esetben (91%) volt emelkedett összsejtszám kimutatható (**8. ábra**).

7. ábra: Bronchoalveolaris lavage folyadékban található sejtek száma NDC-os és SSc-os betegek esetén



Az egyes betegek összsejtszám (sejt/ml) értékeit ábrázoltuk pontokkal. A középső egyenes vonal a betegcsoport median értékét mutatja. A zárójelekben szereplő számok a betegek számát jelöli csoportonként. Mann-Whitney U tesztet használtunk a statisztikai elemzés során. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$.

8. ábra: Az egyes sejttípusok aránya alapján elkülöníthető alveolitisz formák megoszlása NDC és SSc esetén



Az alveoláris makrofágok száma szintén szignifikáns emelkedést mutatott mindkét betegcsoportban a kontrollok esetén tapasztaltakhoz képest (NDC: $p < 0,01$, illetve SSc: $p < 0,05$). Az alveoláris makrofágok átlagos száma NDC-ban $1,3 \pm 1,6 \times 10^5$ makrofág/ml, SSc-ban $1,3 \pm 3,6 \times 10^5$ makrofág/ml, míg a kontroll csoportban $0,5 \pm 0,1 \times 10^5$ makrofág/ml BAL folyadék volt.

A NDC-os betegek BAL folyadéka milliliterenként $1,3 \pm 2,3 \times 10^4$ limfocitát tartalmazott, míg SSc-os betegek esetén $1,3 \pm 3,0 \times 10^4$ /ml, a kontroll személyek esetén pedig $0,4 \pm 0,4 \times 10^4$ /ml limfocitát tartalmazott a visszanyert BAL folyadék. A neutrofil granulociták átlagos száma az egyes vizsgálati csoportokban a következők szerint alakult: NDC-ban $1,2 \pm 1,7 \times 10^3$, SSc-ban $3,9 \pm 48,7 \times 10^3$, míg a kontroll csoportban $1,3 \pm 1,1 \times 10^3$ neutrofil sejtet észleltünk a mosófolyadék egységnyi térfogatában. A kontroll csoport kétszeres szórással növelt átlagához képest az NDC-os csoportban a limfocitaszám 6, a granulocitaszám 2 esetben, míg mindkét sejtszám további egy

beteg esetén volt emelkedett. A SSc-os csoport adatai alapján emelkedett limfocitaszámot 3, emelkedett granulocitaszámot szintén három, míg mindkét sejttípus egyidejű felszaporodását további három esetben tapasztaltuk. Prognosztikai szempontok miatt a mindkét sejtféleség egyidejű felszaporodásával járó eseteket a granulocitás típusú alveolitiszként diagnosztizáltuk **(8. ábra)**.

Tüdőérintettséget mutató myositises betegcsoportot vizsgálva [20] – az izomgyulladást megfelelően csökkentő kortikoszteroid kezelés mellett is – 52 százalékban aktív alveolitiszt igazoltunk, szintén granulocitás túlsúllyal: 1 betegnél észleltünk limfocitás, míg 5 betegnél granulocitás alveolitiszt **(8. ábra)**.

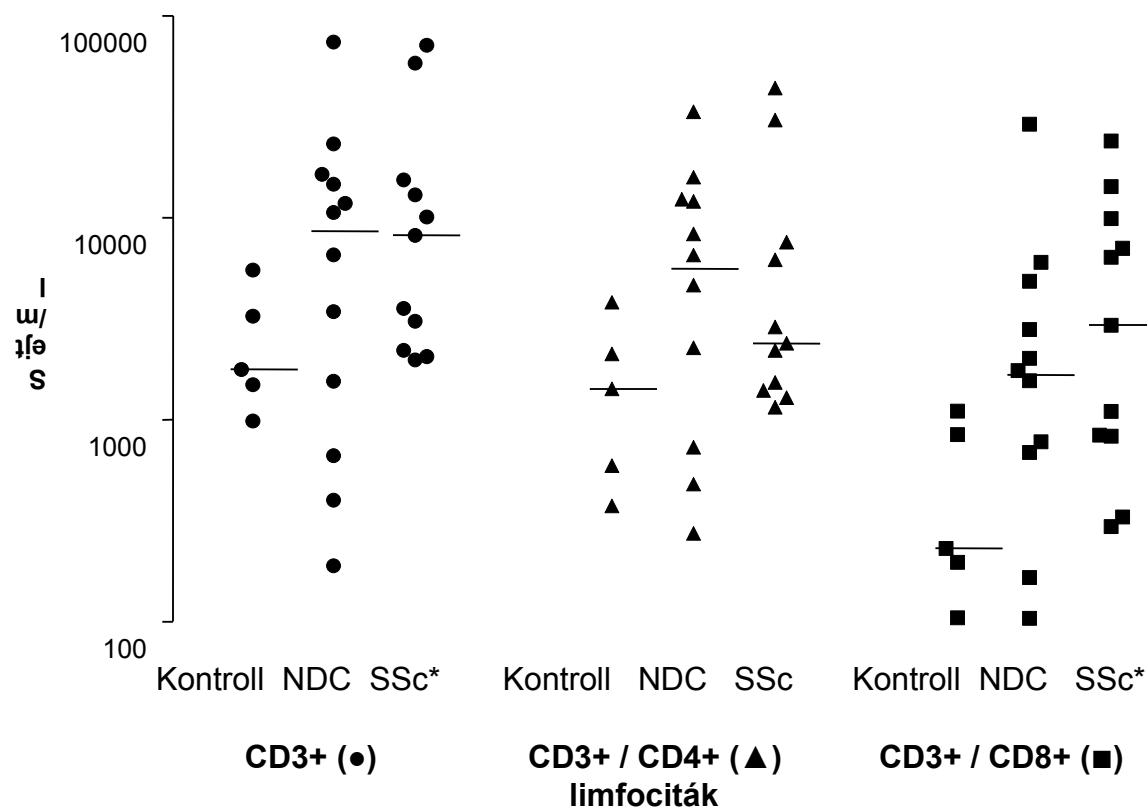
5.4. A limfocita szubpopulációk meghatározása során a citotoxikus T-sejtek felszaporodását mutattuk ki a megnövekedett limfocitaszám háttérében SSc esetén

A SSc-os betegek BAL folyadékából izolált T-limfociták száma ($8,2 \pm 24,3 \times 10^3$ T-sejt/ml) szignifikánsan magasabb értéket mutatott a kontroll csoportéhoz ($1,8 \pm 2,0 \times 10^3$ T-sejt/ml) képest ($p < 0,05$) **(9. ábra)**. A NDC-os csoportban a T-sejtek száma ($8,6 \pm 20,6 \times 10^3$ T-sejt/ml) magasabb volt a kontrollokénál, de ez a szignifikancia szintjét nem érte el **(9. ábra)**.

A SSc-os betegcsoport emelkedett T-sejtszámának háttérében a CD8 pozitív T-limfociták (CD3+ CD4- CD8+) számának szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb értékét észleltük a kontroll csoport adataihoz képest **(9. ábra)**. Ugyanakkor a CD4 pozitív limfociták (CD3+ CD4+ CD8-) számában nem volt jelentős különbség a vizsgált betegcsoportok között. Ugyanezen tendenciát figyeltük meg a NDC-os csoport adatait

vizsgálva, de a csoportok közötti különbségek nem értek el a szignifikáns szintet (9. ábra).

9. ábra: Szignifikánsan emelkedett a T sejt szám és a citotoxikus T sejt szám a kontrollok értékeihez képest SSc-ban normál T helper sejt szám mellett



A vizsgált betegcsoportok median értékét keskeny vízszintes vonal jelzi. A betegek száma az egyes csoportokban a következő volt: Kontroll: 5 fő, NDC: 12 fő, SSc: 11 fő. Szignifikáns eltérés a csillaggal jelölt SSc betegcsoportokban volt, mindkét esetben $p < 0,05$.

Az anti-topoizomeráz pozitív SSc-os betegek közül 2 esetben limfocitózis, illetve 5 esetben granulocitózis típusú alveolitiszt mutattunk ki. Az utóbbi esetek közül két betegnél is a neutrofil granulociták felszaporodása mellett az eozinofil sejtek számának

megnövekedését is észleltük. Az egyetlen anti-centromer pozitív lcSSc-os beteg mosófolyadékának elemzése pedig neutrofil alveolitisz diagnosztizálásához vezetett.

Egy NDC-os és két SSc-os beteg kivételével a betegek nyomonkövetésére is volt módunk a fontosabb klinikai tünetek, mellkas röntgen, illetve légzésfunkciós paraméterek tekintetében. NDC-os csoportban a nyomonkövetés átlagosan $1,7 \pm 0,8$ éve alatt az észlelt klinikai és laboratóriumi paraméterek a betegek túlnyomó többségében változatlanok maradtak, mindössze egy beteg állapotváltozása engedte meg az SLE diagnózisának felállítását. A beteg pulmonális tünetei azonban nem változtak az adott időszakban.

Hat NDC-os beteg esetén a kimutatott limfocitás alveolitisz miatt MP kezelést indítottunk. A kezdő dózis napi 28-32 mg MP volt, amit fokozatosan csökkentettünk le 6-12 mg-ra. A MP kezelés időtartalma 3-18 hónap volt. A betegek más immunszuppresszív kezelést nem kaptak. A vizsgált időszakban két beteg esetén figyeltünk meg több mint 10 százaléknyi rosszabbodást, míg egy beteg esetén 10 százaléknál nagyobb javulást a légzésfunkciós paramétereik tekintetében. A hat MP kezelt és a hat nem kezelt NDC-os beteg légzésfunkciós paramétereit összehasonlítottuk mind a kezelés előtt, mind a kezelés után. Egyik esetben sem észleltünk szignifikáns eltéréseket a vizsgált csoportok között.

A SSc-os betegek közül 5 neutrofil granulocitás esetben alkalmaztunk bólus CPH kezelést (600-1000 mg i.v. havonta, 6-12 alkalommal ismételve). Ezek az esetek MP kezelésben is részesültek (6-12 mg/nap). A követési időszakban ($1,6 \pm 0,8$ év) a CPH/MP kezelésben részesülő betegek légzésfunkciós paramétereik nem mutattak jelentős változást. A CPH/MP kezelt betegek légzésfunkciós paramétereit összehasonlítottuk a kezeletlen betegek adataival. A két csoport között nem találtunk szignifikáns eltérést.

5.5. Az alveoláris makrofágok fokozott lokális proliferációja szoros összefüggést mutat a granulocitás alveolitisz aktivitásával

A megemelkedett összsejtszám hátterét vizsgálva mind NDC, mind SSc esetén szignifikánsan ($p < 0,01$, illetve $p < 0,05$) magasabb alveoláris makrofágszámot észleltünk a kontrolloknál tapasztaltakhoz képest. Neutrofil alveolitisszel járó szisztémás autoimmun kórképek esetén a világon elsőként igazoltuk a lokális sejtproliferáció szerepét az emelkedett makrofágszám hátterében [153].

A kontroll csoport BAL mosófolyadékából izolált alveoláris makrofágok $5,4 \pm 1,9$ százalékban mutattak Ki-67 pozitivitást. A betegcsoportokban ez az arány a következők szerint alakult: a myositises csoportban $9,8 \pm 8,4\%$, a SSc-os csoportban $6,5 \pm 4,9\%$, míg a NDC-os csoportban $4,8 \pm 2,5\%$ volt (**2. táblázat**). A nagy alveoláris makrofágok esetén a kontrollok kétszeres szórással megnövelt átlagához képest 4 myositises (36%) és 3 SSc-os (27%) betegnél figyeltünk meg emelkedett proliferációs indexet. A jellemzően limfocitás alveolitiszt mutató NDC esetén a proliferációs index a kontrollokéhoz volt hasonló (**10. ábra**).

A CD11a pozitív alveoláris makrofágok aránya az egyes vizsgált csoportokban a következők szerint alakult: a kontrollok esetén átlagosan $17,2 \pm 20,2\%$, a myositises betegek esetén $21,8 \pm 24,1\%$, a SSc-os beteg esetén $11,2 \pm 13,6\%$, míg a NDC-os betegek esetén $15,5 \pm 31,3\%$ volt (**2. táblázat**). A kontrollokhoz képest két myositises és egy NDC-os beteg BAL folyadékában észleltünk emelkedett CD11a arányt. A CD11b jelölése során hasonló eredményeket kaptunk: a kontrollok mosófolyadékából izolált nagy alveoláris makrofágok átlagosan $2,7 \pm 3,8$ százaléka volt pozitív, míg a myositises beteg esetén ez $6,0 \pm 9,4\%$, a SSC-os betegek esetén $3,2 \pm 3,1\%$, a NDC-os beteg esetén

pedig $4,1 \pm 8,1\%$ volt (**2. táblázat**). Egy-egy beteg alveoláris makrofágjai mutattak emelkedett CD11b pozitivitást a kontrollokhöz képest mind a myositises, mind a NDC-os csoportban. A SSc-os betegek között nem lehetett kimutatni emelkedett arányban sem CD11a, sem CD11b festődést (**11. ábra**).

10. ábra: Ki-67 sejtmag proliferációs antigén immuncitokémiai jelölése

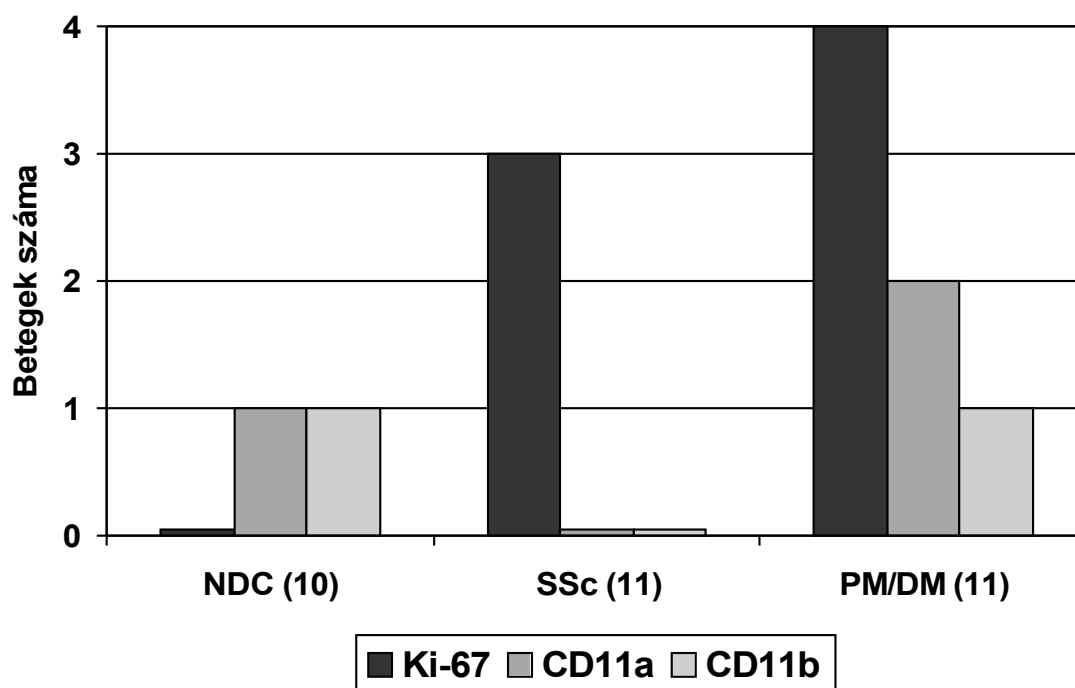


A BAL mosófolyadékból származó sejtek Ki-67 antigén immunocitokémiai jelölését streptavidin-biotin-peroxidase-DAB technikával végeztük el, hematoxylin háttérfestés alkalmazása mellett. A kép 450-szeres nagyítással készült, a pozitív sejtmagokat nyíllal jelöltük.

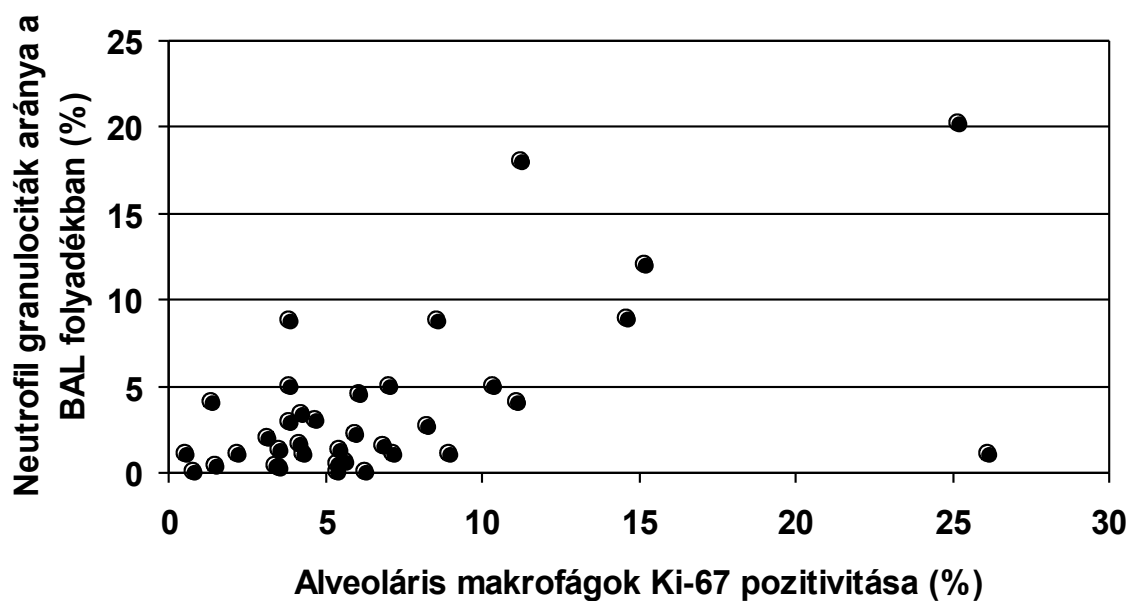
2. táblázat: A Ki-67 antigénnel kapcsolatos vizsgálat betegcsoportjainak főbb klinikai és laboratóriumi adatai.

Név	Nem ¹	Kor (év)	Diagnózis ²	HRCT ³		Immunoszuppresszív kezelés ⁴	Limfocita (%)	Granulocita (%)	Ki-67+ makrofág (%)	CD11a+ makrofág (%)	CD11b+ makrofág (%)
				GGO	Fibrózis						
Systemés sclerosis											
LB	F	43	LcSSc	N	B	N	14.0	0.0	4.3	0.0	0.0
GB	F	41	LcSSc	B	U	N	16.9	1.6	4.2	26.4	3.3
MG	N	49	DcSSc	M	M	N	7.0	12.0	15.2	0.0	0.0
IH	F	57	LcSSc	U	U	N	32.0	1.0	0.6	0.6	-
LH	N	51	DcSSc	U	U	N	5.0	18.0	11.3	1.3	6.7
KK	N	44	LcSSc	N	B	N	15.0	8.8	3.9	8.0	0.0
CK	N	32	DcSSc	M	M	N	11.0	1.0	7.2	19.0	3.8
SK	N	39	LcSSc	M	M	N	6.1	8.9	14.7	1.4	2.0
NK	N	56	LcSSc	B	M	N	3.0	0.2	3.6	22.2	4.3
AP	N	59	DcSSc	M	U	N	4.8	1.3	3.6	40.0	8.9
KP	N	23	DcSSc	U	M	N	25.3	0.3	3.5	4.2	-
Myositis csoport											
GA	N	40	PM	M	M	4mg MP	14.0	20.0	25.3	61.2	31.0
IP	N	41	PM	N	M	8mg MP	16.0	1.0	26.2	12.4	5.4
AE	N	47	PM	N	U	20mg MP	11.9	8.7	8.6	28.8	2.7
AL	N	19	Sci-M	B	B	32mg MP/100mg A	38.3	0.3	1.5	46.2	9.2
MM	N	53	PM	M	U	N	12.0	4.0	11.2	0.0	0.0
JM	N	43	PM	B	M	8mg MP	13.0	0.5	5.4	8.6	-
JM	N	53	DM/CC	N	M	36mg MP	15.1	3.3	4.3	61.8	2.0
AR	N	47	DM	B	M	32mg MP/50mg A	16.0	4.5	6.1	0.0	0.0
LS	N	66	DM	B	U	4mg MP/50mg A	17.0	5.0	7.1	17.2	9.1
MS	N	46	Sci-M	B	M	12mg MP	2.0	1.0	2.2	0.0	0.0
RS	N	41	Sci-M	M	M	12 mg MP	9.5	5.0	10.4	3.9	1.2
Nem differenciált kollagenózis											
FB	N	39	NDC	N	M	N	18.9	1.3	5.5	95.0	0.5
LB	N	46	NDC	M	B	N	0.5	1.5	6.9	0.0	0.0
BH	N	51	NDC	B	U	N	7.0	2.0	3.2	0.0	2.4
ZH	N	49	NDC	B	M	N	5.0	0.0	0.8	0.0	-
JK	N	59	NDC	B	B	N	9.2	0.6	5.7	11.9	6.9
JL	N	42	NDC	N	B	N	12.0	1.0	4.3	2.0	0.0
LP	N	56	NDC	N	U	N	66.0	4.0	1.4	0.0	-
IS	N	60	NDC	U	H	12mg MP	13.0	1.0	9.0	1.0	0.0
FS	N	41	NDC	B	M	N	1.0	0.0	5.4	0.0	0.0
IS	N	42	NDC	B	M	N	5.2	2.2	6.0	45.2	23.0
Kontroll csoport											
LG	F	25	-	-	-	N	12.7	5.0	3.9	0.0	0.0
BK	N	25	-	-	-	N	6.1	0.0	6.3	8.6	0.0
RK	F	20	-	-	-	N	5.6	2.9	3.9	43.7	5.9
SO	N	23	-	-	-	N	3.3	2.6	8.3	0.0	0.0
ZS	N	23	-	-	-	N	14.0	3.0	4.7	33.5	7.8

11. ábra: Emelkedett arányú Ki-67 / CD11a / CD11b festődéssel rendelkező betegek száma különböző szisztémás autoimmun betegségekben.

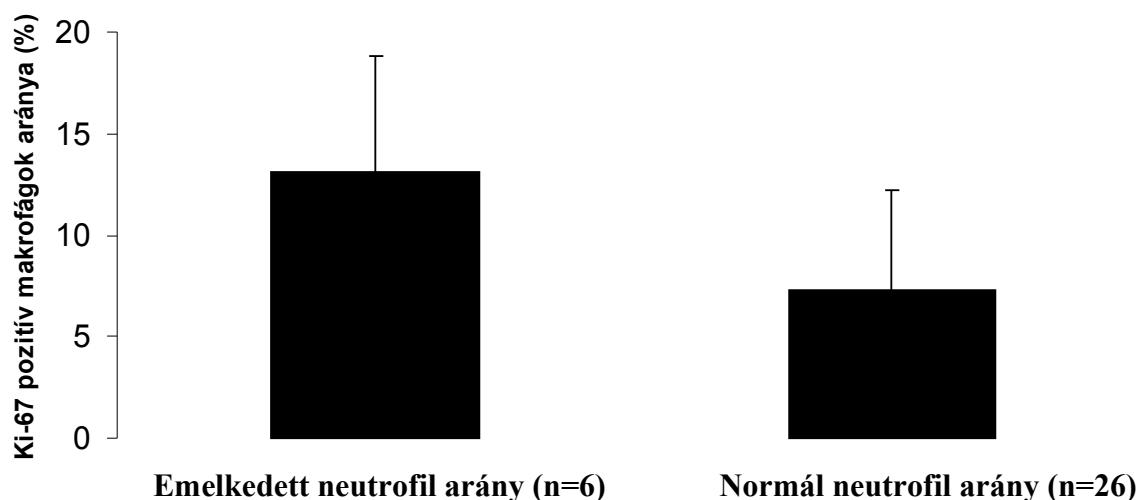


12. ábra: Pozitív korreláció mutatható ki a BAL folyadék sejtjeinek granulocita aránya és a Ki-67+ alveoláris makrofágok aránya között ($r=0.5775$, $p<0.001$).



Pozitív korrelációt találtunk a BAL folyadék granulocita százalékos aránya, illetve a Ki-67+ alveoláris makrofágok aránya között ($r=0,5775$, $p<0,001$) (**12. ábra**). A makrofágok Ki-67 pozitivitásával kapcsolatban további korrelációt nem találtunk sem más sejtek arányával, sem a tüdőfunkciós paraméterekkel összevetve. Abban az esetben, amikor az emelkedett neutrofil granulocita arányt mutató esetek Ki-67 pozitivitását összevetettük azokkal, melyek normális granulocita arányt mutattak a BAL folyadékban a kontrollokéhoz képest, a Ki-67 pozitív alveoláris makrofágok szignifikánsan magasabb arányát észleltük (neutrofil alveolitiszes esetek: $13,2\pm 7,3\%$, nem neutrofil alveolitiszes esetek: $5,8\pm 5,0\%$; $p<0,05$) (**13. ábra**).

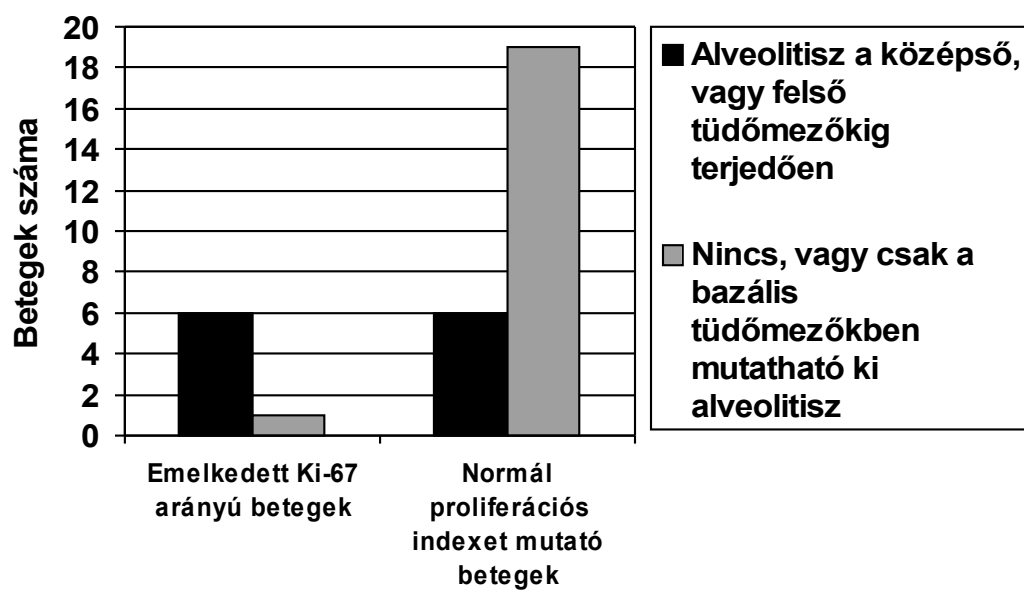
13. ábra: Az emelkedett neutrofil granulocitaszámot mutató esetekben az alveoláris makrofágok szignifikánsan magasabb Ki-67 pozitivitását észleltünk a normál granulocita arányt mutató esetekhez képest ($p<0,05$)



Azon betegek esetén, akiknek a HRCT felvételen észlelt tejüveghomály kiterjedése meghaladta a bazális régiókat, szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb arányban volt proliferáló alveoláris makrofág kimutatható (12 beteg, $9,9 \pm 6,6\%$), mint azon betegeknél, akiknél a tejüveghomály csak a bazális régiókat érintette, vagy az egyáltalán nem volt kimutatható (20 beteg, $5,5 \pm 5,3\%$) (2. táblázat).

A hét emelkedett proliferációs indexet mutató beteg közül 6 beteg HRCT képe mutatott kiterjedt tejüveghomályt, 1 beteg esetén pedig nem ábrázolódtott alveolitiszre utaló eltérés a képeken. A többi, normál proliferációs indexet mutató beteg HRCT képe 6 esetben mutatott kiterjedt tejüveghomályt, 19 esetben ez az elváltozás vagy csak a bazális régiókra korlátozódott, vagy egyáltalán nem volt kimutatható. Ez a különbség a két csoport között szignifikánsnak bizonyult ($p < 0,01$) (14. ábra, 2. táblázat).

14. ábra: Emelkedett proliferációs indexet mutató betegek HRCT felvételein a tejüveghomály gyakrabban terjed a bazális régiók fölé, mint a normál proliferációs indexű betegeké ($p < 0,01$)



5.6. Az alveoláris makrofágok nem mutattak funkcionális eltéréseket SSc-ban

Az alveoláris makrofágok funkcionális vizsgálatai során nem igazoltunk jelentős eltérést az egyes betegcsoportok között. Az élesztő fagocitózis mértéke hasonló volt a kontrollokéhoz képest mind a spontán, mind az opszonizált fagocitózist illetően. A birka vvt fagocitózisa sem mutatott eltérést a vizsgált csoportok között. Az alveoláris makrofágok kemotaxis vizsgálatakor sem volt észlelhető jelentős különbség a vizsgált betegcsoportok között (**3. táblázat**).

3. táblázat: Systemás sclerosisos betegek perifériás véréből, illetve a BAL folyadékából izolált makrofágok funkcionális jellemzői

	EA (%)	Ops. élesztő (PI)	Élesztő (PI)	emotaxis (μm)
Perifériás vérből származó makrofágok				
SSc (15)	49,2 \pm 11,1	1,5 \pm 0,8	1,5 \pm 0,7	26,4 \pm 9,1
Kontrollok (9)	52,3 \pm 7,95	2,7 \pm 1,8	1,8 \pm 0,5	30,4 \pm 7,2
Alveoláris makrofágok				
SSc (15)	67,5 \pm 8,8	3,4 \pm 1,7	3,0 \pm 1,1	12,9 \pm 7,35
Kontrollok (3)	63,5 \pm 7,5	4,1 \pm 0,1	3,3 \pm 0,2	12,5 \pm 3,5

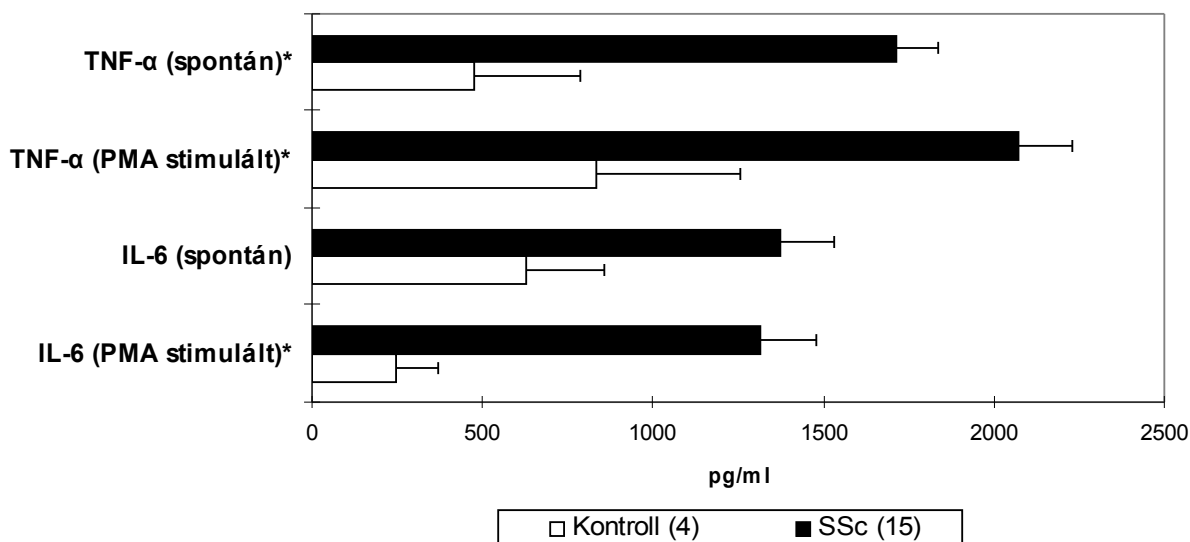
EA: háromnál több opszonizált birka vörösvértestet megkötött makrofágok aránya. Ops.: opszonizált élesztő. PI: fagocitózis index. Zárójelben az esetszámok láthatóak. Részleteket lásd a Módszerek fejezetben.

5.7. A szisztémás autoimmun kórképekre jellemző citokinprofil jelentős eltérést mutat az egészséges populációban észleltekhöz képest

5.7.1. Emelkedett TNF- α és IL-6 termelést mutatnak az alveoláris makrofágok SSc esetén

Mind a spontán, mind a PMA stimulált TNF- α termelés emelkedett volt a SSc-os csoportot vizsgálva a kontrollokéhoz képest. Az IL-6 termelést illetően szintén emelkedett spontán szekréción tudunk kimutatni a SSc-os csoportban a kontrollokhöz képest. Ez a különbség stimulációt követően szignifikánssá vált ($p < 0,05$) (15. ábra).

15. ábra: Systemás sclerosisos betegek alveoláris makrofágjainak spontán, illetve PMA stimulációt követő citkintermelése (* $p < 0,05$)



5.7.2. A megváltozott citokin-egyensúly jellemzésére alkalmazott áramlási citométeres vizsgálatok alkalmasnak bizonyultak a terápiás hatás nyomonkövetésére WG-ban

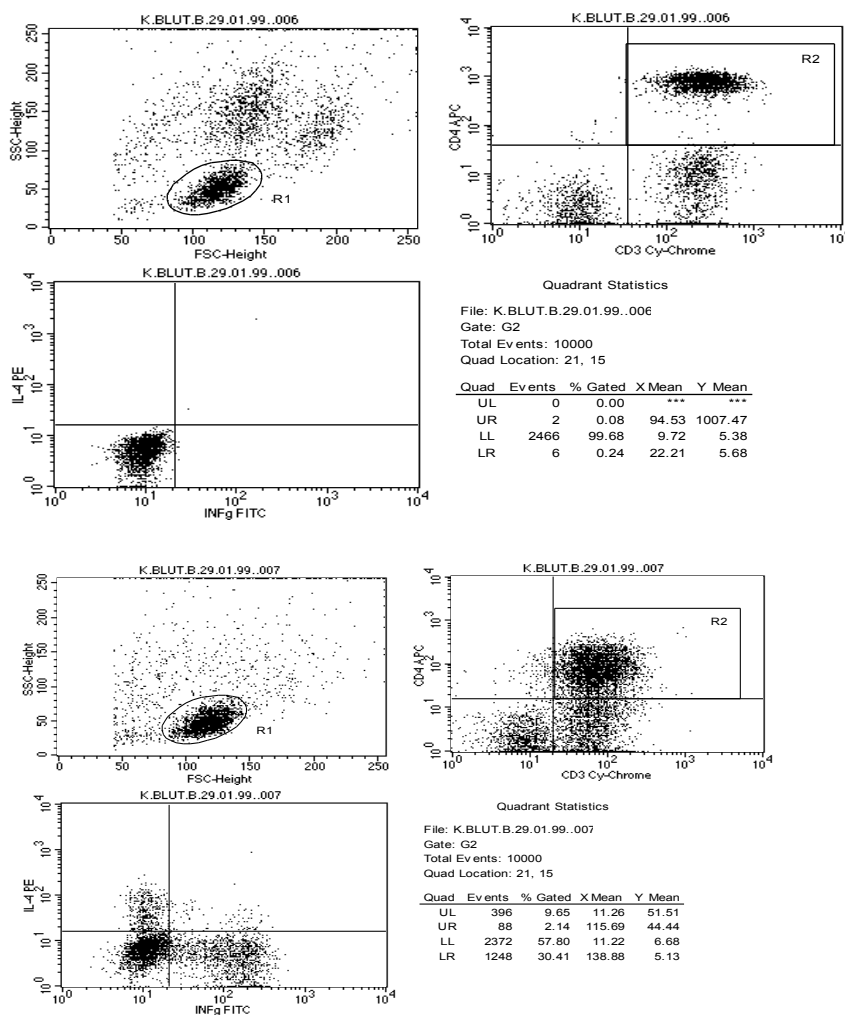
A Wegener granulomatózissal foglalkozó tanulmányaink során azt találtuk, hogy a perifériás vérben mind a CD4+, mind a CD8+ T-limfociták IL-4 termelése szignifikánsan ($p < 0,01$, $n=5$) emelkedett volt a kontrollokéhoz képest, de a többi vizsgált citokin (INF- γ , IL-2, IL-5, IL-10) tekintetében nem volt jelentős különbség a vizsgált csoportok között (**16. ábra, 4. táblázat**). Az alkalmazott CPH/MP terápia nem volt kimutatható hatással a megnövekedett IL-4 termelésre (**4. táblázat**), annak ellenére, hogy a betegségaktivitás (DEI és BVAS index) szignifikánsan csökkent az alkalmazott immunszuppresszív kezelés hatására ($p < 0,05$).

4. táblázat: Wegener granulomatózisos betegek perifériás vér T-sejtjeinek citoplazmatikus citokinmintázata kezeletlen, aktív betegek esetén, illetve a kezelés 2. hetének végén.

	CD4+ T-sejtek (%)				CD8+ T-sejtek (%)		
	IL-2	IL-4	IL-5	IL-10	INF- γ	IL-4	INF- γ
WG¹	53,00	5,88	0,00	3,50	14,60	3,60	49,20
	±	±	±	±	±	±	±
WG²	25,34	4,38	0,00	1,44	9,66	1,82	17,15
	±	±	±	±	±	±	±
Kontoll³	59,25	5,60	0,25	3,75	19,80	4,00	47,60
	±	±	±	±	±	±	±
	16,15	3,72	0,50	2,06	10,38	2,55	12,36
	±	±	±	±	±	±	±
	54,00	1,00	1,00	3,13	18,00	0,78	48,89
	±	±	±	±	±	±	±
	11,51	0,71	2,14	2,80	8,66	0,83	11,71

WG¹: Wegener granulomatózisos betegek aktív, kezeletlen stádiumában végzett vizsgálati eredményei. WG²: Wegener granulomatózisos betegek két hét cyclophosphamid / methylprednisolon kezelését követő vizsgálati eredményei. Az egyes vizsgálati csoportok százalékos citokinpozitivitás átlagát és standard deviációját adtuk meg. Részleteket lásd a Módszerek fejezetben.

16. ábra: 6 paraméteres áramlási citometria alkalmazása a perifériás vér limfocitáinak intracitoplazmatikus citokintermelésének meghatározására. Wegener granulomatózisban szignifikánsan emelkedett a kontrollokéhoz képest az IL-4 pozitív T-sejtek (mind a CD4, mind a CD 8 pozitív T-sejtek) aránya ($p < 0,01$, $n=5$).



A limfociták csoportját fizikai paraméterein alapján határoztuk meg. A megfelelő T-sejt subpopuláció meghatározására az FLIII./FLIV. "dot plot" ábrán a CD3/CD4, vagy CD3/CD8 kettősen jelölődő sejteket jelöltük ki. Direkt jelölt izotípus kontroll antitestek felhasználásával első lépésben meghatároztuk a pozitív szignál nagyságát az intracitoplazmatikus citokinek szintjének megállapítására. Második lépésben ehhez a szinthez hasonlítottuk az aktivált sejtek citokintermelését az FLI./FLII. "dot plot" ábrán. A citokin pozitív sejtek arányát quadráns statisztika alkalmazásával határoztuk meg. Minden esetben 1000 limfocita mérése alapján határoztuk meg az adatokat.

A perifériás vér monocita populációjának citokintermelése jelentős eltréréseket mutatott az egészséges kóntollokban észleltekhöz képest. Megemelkedett arányú pozitívítást észleltünk az alábbi citokinek esetén: IL-12 ($p < 0,01$), TNF- α és IL-10 ($p < 0,05$). Az alkalmazott cyclophosphamid/prednizon terápia mindhárom citokin termelését normalizálta (**5. táblázat**). Az IL-8 pozitívítása ($n=5$) hasonló volt a kóntollokéhoz mind a terápát megelőzően, mind azt követően.

5. táblázat: Perifériás vér monocitáinak citoplazmatikus citokinmintázata kezelés előtti aktív stádiumban, illetve az immunszuppresszív kezelés 2. hetének végén Wegener granulomatózisban

	IL-8 (%)	IL-10 (%)	IL-12 (%)	TNF- α (%)
Kóntroll ($n=9$)				
Spontán	84,9 \pm 3,4	5,27 \pm 6,20	4,9 \pm 1,4	4,1 \pm 1,7
LPS stimulált	95,1 \pm 2,8	17,45 \pm 14,38	17,7 \pm 1,7	31,4 \pm 6,4
WG-os betegek kezelés előtt ($n=6$)				
Spontán	82,4 \pm 12,7	17,17 \pm 8,09*	24,6 \pm 4,6*	17,0 \pm 5,8**
LPS stimulált	97,4 \pm 0,9	34,50 \pm 15,68*	34,2 \pm 8,8	43,6 \pm 12,2
WG-os betegek a kezelés 2. hete után ($n=6$)				
Spontán	24,6 \pm 4,6	3,33 \pm 4,84	2,0 \pm 0,8	1,6 \pm 0,8
LPS stimulált	34,2 \pm 8,8	5,33 \pm 4,46	13,8 \pm 3,6	16,6 \pm 4,7

Az alkalmazott immunszuppresszív kezelés hatására normalizálódott a vizsgált Wegener granulomatózisos (WG) betegek IL-12, TNF- α és IL-10 fokozott arányú pozitívítása a perifériás vér monocitáiban ($*p < 0,01$, $**p < 0,05$).

5.7.3. Az ANCA patogenetikai szerepét bizonyítja a TNF- α termelésére kifejtett hatása WG-ban

A Wegener granulomatózissal kapcsolatban a monocitákat illetően azt is sikerült kimutatnunk, hogy a PR3-ANCA által opszonizált, apoptotikus polimorfonukleáris sejtek fagocitózisa szignifikánsan ($p < 0,05$) nagyobb mértékben növelte meg a makrofágok TNF- α termelését, mint az irreleváns IgG-vel kezelt, vagy a kezeletlen apoptotikus granulociták fagocitózisa. Ez is alátámasztja mind az ANCA, mind a nem-specifikus sejtvonal fontosságát a Wegener granulomatózis patomechanizmusában.

5.7.4. További intracitoplazmatikus citokin vizsgálatok áramlási citométerrel

Az eddigi, klinikánk saját beteganyagán végzett intracitoplazmatikus citokin mérések eredményei alapján mind SSc-ban, mind NDC-ban Th-1 sejtekre jellemző INF- γ túlsúlyt tudtunk kimutatni a BAL folyadékból származó CD4+ T-limfociták vizsgálata során. Az alveoláris makrofágok citokin termelése ellenben inkább a Th-2 irányú differenciálódást segíti elő: a kontroll csoporthoz képest emelkedett arányban találtunk IL-10-et termelő makrofágot, míg a TNF- α és az IL-12 tekintetében lényeges eltérés nem volt kimutatható a vizsgált csoportok között [163]. Ezen kezdeti eredményeink a kis esetszám miatt még további vizsgálatokat igényelnek.

6. Megbeszélés

Pécsett, 1995-ben megalakult Immunológiai Osztály munkacsoportja a klinikai immunológiai széles területéről a szisztémás autoimmun kórképekben szenvedő betegek gondozását tűzte ki fő feladatául. Betegeink főként a Dunántúl déli régiójából származnak, bár a klinika az egész ország területéről fogad betegeket. A betegek száma gyorsan emelkedett (jelenleg 1500 körüli a gondozásba vett betegek száma), így mind a klinikai, mind az experimentális kutatások elkezdődhettek. A szisztémás autoimmun kórképek jellegzetessége a gyakori pulmonális érintettség, bár ennek klinikai jelentősége, terápiás és prognosztikai vonzata kórképenként jelentős mértékben eltérő lehet [1,2,3,4,5,6,7,8]. Az alveoláris térben zajló steril gyulladás, az alveolitisz, illetve a következményesen kialakult fibrózis adott esetben súlyos formát ölthet, a kialakult cardiorespiratorikus elégtelenség végül a beteg halálához vezethet. Ezek alapján a pulmonális érintettség néhány kórképben (mint például a SSc és a DM/PM) vezető mortalitási tényezőnek tekinthető [14,15,20]. A kollagenózisokban kialakuló pulmonális elváltozások modellbetegsége az IPF, melyre egy granulociták típusú alveolitisz jellemző [164,39,165]. IPF-ban a granulociták alveolitisz gyorsan súlyos pulmonális fibrózishoz vezet, a betegségnek az immunszuppresszív kezelések ellenére is rossz a prognózisa [16,17]. Más betegségekben – így például SLE-ban, primer Sjögren szindrómában és RA-ben inkább egy limfocita-túlsúlyú alveolitisz mutatható ki, mely betegségekben csak ritkán figyelhető meg súlyos pulmonális fibrózis [14,166,167,168,169,170,171,62]. Munkánk fő célkitűzése az volt, hogy a fibrotizáló alveolitisz fő jellegzetességeit, betegségenkénti eltéréseit vizsgáljuk a szisztémás autoimmun kórképekben. Munkánk fő klinikai vonatkozása annak eldöntése volt, hogy az egyes vizsgált kórképekben – mint például SSc-ban, illetve részben ennek előfázis-

betegségének tekinthető NDC-ban - milyen gyakorisággal, illetve mely típusa fordul elő a fibrotizáló alveolitisznek. Ezen belül egyrészt a környezeti provokáló faktorok szerepét, másrészt a már zajló aktív alveolitisz sejt- és subcelluláris szintű eltéréseit kívántuk kórképenként vizsgálni, illetve ezek lehetséges klinikai vonatkozásait megállapítani [172,41,162,173,174,175,20,153,19,11].

A scleroderma csoportba tartozó betegségek kiváltásában fizikai (pl. vibráció) károsító tényezők [85] mellett kémiai anyagok is gyanúba kerültek. A kemikáliák szervezetbe jutása nagyobb részt inhalációs úton következhet be. A vinilklorid, az epoxygyanta és a szilikátok mellett számos szerves oldószer lehetséges szerepével is több tanulmány foglalkozott [86,87,88,89]. A szerves oldószereken belül a triklóretilén provokatív hatásáról számol be a legtöbb közlemény [96,101,98,92,102,95,96,103]. A korábbi tanulmányok bizonyos betegcsoportokban, így férfi, illetve anti-Sci-70 autoantitest pozitív betegek esetén mutatták ki a szerves oldószer expozíció szerepét a SSc kialakulásában [87,86,104,105]. Munkacsoportunk korábbi közleménye alapján - mely nem populáció-analízisen alapuló kontrollált vizsgálatok eredményeit foglalta össze - már sejthető volt, hogy a nők megbetegedésének kiváltásában is szerepet játszhat a szerves oldószerek expozíciója [107]. Jelen munkánk során kontrollált vizsgálat formájában a világon elsőként igazoltuk, hogy a szervezetünkbe főként a tüdőn keresztül, inhalációs úton bejutó szerves oldószereknek, mint környezeti provokációs tényezőknek fontos szerepük van a SSc kialakulásában nők esetén [172] **(2. ábra)**. A nők jelentős expozíciós arányát részben magyarázhatja az ipari munkaköri elhelyezkedésük, mely az 1950-es, 1960-as években a „szocialista iparosítás” során ment végbe. Az Európában tapasztalható genetikai és környezeti különbségek szintén szerepet játszhatnak ebben. Másrészt a SSc kialakulásában felmerült a

microchimerismus szerepe, mint egy lehetséges nem auto-, hanem alloimmun mechanizmus a nők megbetegedésében [176,177,178]. A microchimerismus idegen sejtek perzisztáló jelenlétét jelenti, mely nők esetében a terhesség miatt (foetalis sejtek átjutása az anya vérkeringésébe) gyakrabban fordulhat elő, mint a férfiaknál. A microchimerismus mellett a betegség kialakulását ezen esetekben is egy második, nem specifikus inger válthatja ki, ami szerves oldószerek expozíciója is lehet. Végeredményében egy olyan klinikai kép alakul ki, mely a krónikus GVHD-re emlékeztet [179,180]. A SSc dominálón nők megbetegedése, ezért saját eredményünk abból a szempontból döntő, hogy elsőként igazoltuk kontrollált tanulmány formájában azt, hogy a fenti mechanizmus nők esetében is működhet, nemcsak férfiaknál.

Korábbi közlemények alapján felmerült annak lehetősége is, hogy más szisztémás autoimmun kórkép kialakulásában is szerep játszhat a szerves oldószerek expozíciója [129,130,89]. Ez azon kórképek esetén különösen fontos kérdés, melyek a SSc előfázisának tekinthetők, így NDC-ban és Raynaud szindrómában. A vizsgálataink során a többi vizsgált szisztémás autoimmun kórkép (SLE, DM/PM, Sjögren szindróma, RA) esetén nem sikerült hasonló összefüggést kimutatni a szerves oldószer expozíció és a betegség kialakulása között (**2. és 3. ábra**). A NDC-os és a Raynaud szindrómás betegek egy ötödénél mutattunk ki szerves oldószer expozíciót, mely arány bár emelkedett volt a kontrollokéhoz képest, de a szignifikáns szintet nem érte el. Raynaud szindróma esetén ezen eredmény a kórkép heterogenitását igazolja, s egyúttal valószínűsíti, hogy kevés olyan beteg lehet közöttük, akinél a későbbiek során SSc alakulhat ki. NDC esetén ez az eredmény újabb igazolásnak tekinthető az egyes kórképek eltérő patomechanizmusára, mely egyben az NDC önálló betegségként való felfogását erősíti. Mindkét kórkép esetében a valóban scleroderma előfázisában levő

betegek arányának meghatározásához prospektív tanulmány szükséges, ezért ezen vizsgált betegeinket a későbbiek során utánvizsgáljuk.

A NDC-ről készült nemzetközi klinikai tanulmányok nem összehasonlíthatóak a változatos kritériumrendszerek miatt [110,120,124,125,114]. Calvo-Alén és munkatársai [118], illetve Alarcón és munkatársai [143] által felállított kritériumok saját tapasztalaton alapuló pontosításával és kibővítésével sikerült egy új kritériumrendszert kidolgozni (**1. táblázat**). A változtatás lényege, hogy a kapilláris mikroszkópos eltérésekkel, illetve részletesebb specifikus autoantitest vizsgálatokkal egészítettük ki a kritériumrendszert [19,162]. Az eddigi vizsgálatok alapján a tüdőérintettség jelentősége sem volt megítélhető [120,117,127,114]. Egyes korábbi vizsgálatok vagy nem koncentráltak a pulmonális folyamatokra [124], vagy nem találtak ezirányú eltérést [118,114]. Tanulmányunkban a betegek több mint felében igazoltunk pulmonális érintettséget, mely túlnyomó többségében enyhe elváltozásnak bizonyult (**4. ábra**). Ennek részben az is oka lehet, hogy rövid idejű betegségfennállás mellett került sor a betegek vizsgálatára, bár a néhány hosszabb betegségfennállású betegnél sem igazoltunk súlyos pulmonális eltérést. Egy szelektált, pulmonális érintettséget mutató NDC-os beteganyagban elvégzett prospektív tanulmányra volna szükség annak megállapítására, hogy mely esetekben lehet potenciálisan jelentős tüdőelváltozásra számítani.

A NDC-t sokáig egyszerűen csak a szisztémás autoimmun kórképek „előfázisának” tekintették. Saját eredményeink alapján megpróbáltunk két alcsoportot felállítani, melyek közül az egyik a lupus/anti-foszfolipid szindróma családba tartozó betegeket, a másik pedig a scleroderma csoportba tartozókat gyűjtötte volna össze. A gyulladásszerű tünetekkel, polyarthritissel járó esetek képeztek egy vizsgálati csoportot, míg a többi fennmaradó eset adta a második csoportot. A polyarthritises betegek

gyakrabban mutattak anti-dsDNA, anti-cardiolipin és anti-Rnp antitest pozitivitást, mint a polyarthritiss nélküli esetek **(5. ábra)**. Az SLE-re jellemző kapillármikroszkópiás elváltozásokat (megnövekedett transzparencia, foltos avaszkularitás, bizarr alakú hurkok) szintén gyakran észleltük a betegek polyarthritises csoportjában **(6. ábra)**. Másrészt azokra az esetekre, amelyek nem jártak jelentősebb gyulladásos tünetekkel, sclerodermára jellegzetes kapilláris mintázat (óriáskapilláris) **(6. ábra)** és az ACA/anti-ScI-70 antitest pozitivitás volt jellemző **(5. ábra)**. Ezen betegcsoport scleroderma-családba tartozó betegségekre jellemző klinikai eltéréseket (Raynaud szindróma, tüdőfibrozis) mutatott **(4. ábra)**. Bár a két csoport között voltak árnyalatnyi különbségek, de igazán meggyőző eltérést nem sikerült igazolnunk a két alcsoport között **(4., 5., 6. ábra)**. Véleményünk szerint a kritériumrendszer összetettsége, pontossága, valamint a definitív kötőszöveti betegség gondos mérlegelése miatt valószínűleg csak a valóban NDC-os betegek kerültek be vizsgálati csoportunkba, míg az enyhe, könnyen elnézhető lupusos vagy sclerodermás betegeket kizártuk a további vizsgálatokból. Ezek alapján sikerült egy olyan betegcsoport létrehozása, mely heterogenitása ellenére a látványos különbségeket nélkülözi, s így a háttérben álló eltérések valóban egységes kórképnek tekinthetők.

Azon NDC-os betegek esetén, akiknél BAL vizsgálatra is sor került, nagyon magas arányban mutattunk ki aktív alveolitiszt **(7., 8. ábra)**. Az alveoláris térben felszaporodó sejtektől függően limfocitás, illetve granulocitás típusú gyulladást szoktak elkülöníteni [14,181,182,183,184]. Kollagenózisokban, illetve IPF-ban szerzett tapasztalatok szerint a limfocitás alveolitisz lassabb progressziójú, kezelésre jobban reagáló elváltozásnak tekinthető a granulocitás típusal szemben [14,15,16,17]. A világon elsőként igazoltuk azt, hogy a NDC-ban zajló alveolitisz döntően limfocitás

típusú, bár két esetben granulocitás típusú gyulladást is kimutattunk (**7.**, **8. ábra**). A limfociták szubpopulációinak (CD4, CD8 pozitív T-sejtek) arányát vizsgálva a kontrollokéhoz képest emelkedett CD8 pozitívítást észleltünk, melynek mértéke azonban nem érte el a szignifikáns szintet (**9. ábra**). Ezek, illetve a korábban már részletezett klinikai tapasztalatok (általában enyhe radiológiai, illetve minimális légzésfunkciós eltérések) alapján az a véleményünk, hogy NDC-ban a tüdőfibrózisnak valószínűleg nincs komoly klinikai jelentősége a magas előfordulási arány ellenére sem, de a prognózis biztos megítéléséhez további prospektív tanulmányok szükségesek.

Eredményeink megerősítik azt a jól ismert tényt, hogy mind az aktív alveolitisz, mind a pulmonális fibrózis gyakori manifesztációja SSc-nak (**7.**, **8. ábra**) [185,4,141,5,186,187,188,61,189,190,191]. Munkánk abban is hasonló eredményekre engedett következtetni hazai beteganyagban, amit a korábbi nemzetközi tanulmányok már leírtak [31,63]: SSc-ban mind a BAL folyadékból izolálható sejtek abszolút száma, mind arányuk jelentősen eltér a kontrollokétól. SSc-ban mi is jelentősen emelkedett összsejtszámot és nagyrészt granulocitás típusú alveolitiszt észleltünk, bár limfocitás alveolitisz is előfordult betegeink között (**8. ábra**). A SSc két alcsoportja közül a dcSSc-ra kifejezett bőrtünetek mellett súlyos belsőszervi érintettség is jellemző, mely elváltozások a betegség korai fázisában már felléphetnek [83]. Az anti-topoizomeráz-1 antitest gyakran kimutatható a dcSSc-os betegek szérumból, mely antitest jelenléte súlyos pulmonális fibrózis kialakulását valószínűsíti [192,21,193]. Ezt a tényt saját eredményeink is megerősítették: a 7 anti-Scl-70 antitest pozitív betegünk közül 5 esetben igazolt a BAL vizsgálat emelkedett neutrofil granulocitaszámmal járó alveolitiszt. Az anti-centromer antitest a SSc másik, enyhébb bőr- és belsőszervi tünetekkel járó csoportjára jellemző. A lcSSc-ra a betegség késői fázisában fellépő, időnként súlyos

pulmonális hypertonia jellemző számottevő intersticiális fibrózis nélkül [83]. A lcSSc-os csoportban az egyetlen ACA pozitív betegünk esetén is neutrofil alveolitist észleltünk, mely felhívja a figyelmünket arra, hogy néhány esetben a lcSSc-os betegben is súlyos intersticiális tüdőbetegség alakulhat ki. Ez az észlelésünk is alátámasztja munkacsoportunk egy korábbi HRCT-vel foglalkozó tanulmányának hasonló következtetését [4]. A SSc-os betegek BAL folyadéka emelkedett arányban tartalmaz CD8+ T-sejteket [35,34]. Ezt az észrevételt saját eredményeink is megerősítik (9. ábra). SSc esetén az észlelt limfocita többlet hátterében a CD8 pozitív T-sejtek felszaporodását igazoltuk. Ez az eredményünk egyezik korábbi nemzetközi publikációk közzéléivel, melyek egyike felveti ezen sejtek citokintermelése alapján a Th2-es (pontosabban Tc2-es) típusú, azaz inkább humorális jellegű immunválasz jelentőségét SSc-ban [34]. Ezen eredmény további megerősítésre vár. A CD8 pozitív limfociták felszaporodása azonban a korábbi publikációk [35,34] és saját eredményeink alapján bizonyosnak tűnik, így a pulmonális fibrózis kialakulásában ezen sejtek szerepe biztosra vehető. Annak eldöntése, hogy a CD8 pozitív T-sejtek jelentősége inkább regulatórikus (Tc2-es típusú immunválasz), vagy inkább közvetlen citotoxikus hatásukban rejlik, még további vizsgálatokat igényel.

Az alveolitist a sejtarányok megváltozása mellett a sejtek összárszámának nagyfokú megnövekedése is jellemzi, mely részben a mononukleáris sejtek felszaporodásának is köszönhető. Az alveoláris makrofágok számának fokozódása csak részben magyarázható a perifériás vér monocitáinak az alveoláris térbe történő beáramlásával [66,67,68]. A sejt-influx mellett a lokális proliferáció is szerepet játszhat az alveoláris makrofágok felszaporodásában [69]. Elsőként írtuk le, hogy SSc – és a szintén dominálónan granulocitás alveolitisszel járó DM/PM - esetén az alveoláris tér

monocitoid sejtjeinek felszaporodásában nemcsak a megnövekedett sejtbeáramlásnak, hanem az aktív gyulladás helyén történő lokális makrofág-osztódásnak, proliferációnak is szerepe van [153]. Egy korábbi tanulmány már leírta a jelenséget idiopathiás pulmonális fibrózisban, illetve kötőszöveti betegségekben, de az utóbbi betegségcsoporton belül nem különítették el az egyes kórképeket [69]. Saját vizsgálatunkban SSc-os, DM/PM-es és NDC-os betegek alveoláris makrofágjainak proliferációs aktivitását vizsgáltuk. Mind a SSc-ban, mind a DM/PM-ben a neutrofil alveolitisz dominál, míg NDC-ban limfociták felszaporodása a jellemző **(2. táblázat)**. SSc-ban és DM/PM-es betegekben észleltünk emelkedett proliferációs indexet mutató alveoláris makrofágokat **(11., 13. ábra)**. A Ki-67 proliferációs antigén a granulocita aránnyal mutatott szoros korrelációja **(12. ábra)** miatt a granulocitás alveolitisz új aktivitási markerének tekinthető. NDC-ban a megnövekedett makrofágszám háttérében nem tudtunk emelkedett arányú lokális sejtosztódást kimutatni, így ez a periféria felőli sejtbeáramlásnak tulajdonítható. A Ki-67 expressziója szoros összefüggést mutatott a HRCT felvételeken észlelhető tejüveghomály kiterjedésével **(14. ábra, 2. táblázat)**. Azokban az esetekben, ahol az aktív gyulladás kiterjedtségét jelző tejüveghomály a középső vagy a felső tüdőmezőket is érintette, azokban az esetekben a proliferációs index fokozott volt. Ez arra enged következtetni, hogy a Ki-67 proliferációs antigén nemcsak pusztán a neutrofil alveolitisz, hanem a gyulladás kiterjedésének, aktivitásának jelzője is lehet. Véleményünk szerint ezen proliferációs antigén vizsgálata fontos prognosztikai szerepet játszhat, hisz a granulocitás alveolitisz eleve rosszabb prognózisú, mint a limfocitás alveolitisz [14,15,16,17].

Kísérleteink másrészt rávilágítanak arra a tényre is, hogy az úgynevezett specifikus és a nem-specifikus immunrendszer viszonylatában a monocita-makrofág

vonálnak meghatározó szerepe lehet. Ezt támasztják alá az alveoláris makrofágok funkcionális állapotát vizsgáló, [41] illetve a citokinrendszerrel kapcsolatos további kutatásaink is [41,163,157,194]. Az emelkedett számú alveoláris makrofág fagocitáló képessége és kemotaktikus hatásra történő vándorlása nem mutatott eltéréseket a kontrollokéhoz képest SSc-ban (**3. táblázat**). A gyulladós folyamatokat elősegítő citokinek (például TNF- α , IL-6, PDGF, TGF) szerepével SSc-ban sok közlemény foglalkozik [195,196,197,198,199,200,201,202,203,204], azonban a pulmonális fibrózisban betöltött szerepéről kevés adat állt rendelkezésünkre [205,63,206]. Saját méréseink szerint (melyek összhangban vannak a fenti közlemények adataival) a TNF- α és az IL-6 termelésében az alveoláris makrofágok SSc esetén fokozott aktivitást mutattak (**15. ábra**). Az eddigiek alapján ezen sejtpopulációnak fontos szerepe lehet a gyulladós folyamatok beindításában, illetve fenntartásában. Összegezve az alveoláris makrofágok szerepét a kollagenózisok pulmonális érintettségének kialakulásában elmondhatjuk, hogy kiemelt szereppel rendelkeznek. Valószínűleg elengedhetetlen részük van a környezeti provokáló faktorok „hatásának” közvetítésében az immunrendszer felé, a gyulladós folyamatok beindításában citokinjeik segítségével (IL-6, TNF- α), egyéb gyulladós sejtek gyulladás helyére történő vándorlásában (IL-8: granulociták kemotaxisa [205]), a gyulladás fenntartásában, végül aktivitásának és kiterjedésének szabályozásában (Ki-67 proliferációs markerrel való összefüggés).

A gyulladós folyamatok megértéséhez az immunválasz típusát (sejtes / humorális) meghatározó citokinrendszer vizsgálata nélkülözhetetlen [73]. A kötőszöveti betegségekben ezek szerepéről meglehetősen keveset tudunk, az eddigi tanulmányok adatai ráadásul sok ellentmondást is tartalmaznak [74,75,76,77,78,79]. Általában igaz az

a megállapítás, hogy míg az úgynevezett szervspecifikus autoimmun kórképekre a Th1-es, míg a szisztémás megbetegedésekre a Th2-es immunválasz a jellemző [207,208]. Az immunválasz tehát ezen kórképekben döntően humorális mechanizmusú. Egyes betegségekben azonban ettől eltérő is lehet a citokinválasz [76]. Arról pedig még kevesebbet tudunk, hogy van-e különbség a különböző szervekben lezajló gyulladások között az immunválasz típusa szerint. Az egyes kórképek megváltozott citokin-egyensúlyának jellemzésére sikeresen alkalmaztuk a 6 paraméteres áramlási citometriás vizsgálatokat [163,157,194] **(16. ábra)**. A Wegener granulomatózis egy szisztémás nekrotizáló vaszkulitisz, melyben a vese érintettsége mellett döntő a légzőszervekben kialakult elváltozások súlyossága. Az aktivált CD4 pozitív T-sejtek INF- γ termelésének megnövekedése jellemzi a generalizált Wegener granulomatózist [79,78]. Szintén ismert a T-sejtek kontrollokhoz képest emelkedett TNF- α termelése [78]. A monociták citokintermelésük révén (például IL-12 emelkedett termelése) kulcsfontosságú szerepet játszanak a Th1 irányú differenciálódásban Wegener granulomatózis esetén [78]. Az emelkedett IL-12 mellett arról is közöltek már adatot, hogy a monocitákban a TNF génexpressziója is fokozott [134]. Comabella és munkatársai közleménye szerint a bolus cyclophosphamid és methylprednisolon terápia sclerosis multiplexben normalizálta a monociták fokozott IL-12, illetve a T-sejtek INF- γ termelését [209]. WG-ban sikerült igazolnunk a perifériás vér monocitáinak megváltozott citokintermelését, mely eltérések immunszuppresszív kezelés hatására normalizálhatók voltak [157] **(5. táblázat)**. Ez az eredményünk is alátámasztja azt a klinikai tapasztalatot, hogy a szisztémás autoimmun kórképek kezelésében a terápia lehető legkorábbi és megfelelően agresszív bevezetése döntő a betegség végső kimenetelét illetően, s alapjaiban megváltoztathatja a betegség természetét. Wegener granulomatózisban ismert, hogy a granulómában található

limfociták Th1-es citokinprofilt mutatnak [79]. Saját eredményeink is INF- γ túlsúlyt igazolnak, azonban a kontroll populációhoz viszonyítva szignifikáns különbséget csak az IL-4 pozitív limfocitáknál tapasztaltunk: ezek aránya magasabb volt az egészségesekben észlelthez képest, ezen eltérés a kezelés hatására sem módosult. Jelen vizsgálataink egy olyan betegcsoportot képviseltek, akik betegségének meghatározója a szisztémásan megjelenő nekrotizáló vaszkulitisz volt. Ez az eredmény felveti azt az ésszerű gondolatot, hogy az egyes kórképeken belül az egyes betegségstádiumok eltérő citokinmintázatot mutathatnak: míg a granulomatózisos elváltozások inkább Th1-es profilt mutatnak, addig eredményeink felveteik annak lehetőségét, hogy a szisztémás vaszkulitisz dominanciája esetén már megjelenik egy Th2-es citokinprofil is. Elképzelhető az a lehetőség is, hogy az egyes szervekben zajló gyulladás is eltéréseket mutathat a citokinhálózatot illetően, legalábbis a perifériás vérben észlelhető eltérések jelentősen különbözhetnek a szervekben észleltekhöz képest. Ezt támasztja alá az a jól ismert tény is, hogy például sarcoidosis esetén perifériás vérben alacsony, tüdőben magas a CD4/CD8 limfocita arány, melynek hátterében a CD4-sejtek a gyulladás helyére, tüdőbe történő vándorlása rejlik.

A Wegener granulomatózis egyik legfontosabb szerológiai markere a PR3-ANCA [135,136]. Az is ismert tény, hogy Wegener granulomatózisban a TNF- α fokozott termelődése figyelhető meg [78,79]. Saját eredményeink azt igazolták, hogy a PR3-ANCA az apoptotikus neutrofil granulocitákat opsonizálva növelte a makrofágok fagocitáló képességét, fokozta azok TNF- α termelését. Összességében tehát az ANCA gyulladást erősítő tulajdonságát sikerült igazolnunk [194]. Ez az eredményünk egy új bizonyíték arra a régi feltételezésre, mely szerint ezen autoantitestnek nemcsak diagnosztikus, hanem fontos patogenetikai szerepe is van WG-ban.

A többi szisztémás autoimmun kórképben a citokinhálózat feltérképezéséhez további vizsgálatok szükségesek, melyek kutatásaink folytatásának fő irányát képezik.

7. Új eredményeink

7.1. A világon elsőként igazoltuk kontrollált tanulmány formájában, hogy a szerves oldószereknek, mint főként a tüdőn keresztül inhalatív úton a szervezetbe kerülő környezeti faktoroknak, provokatív szerepe lehet a SSc-ban szenvedő nők betegségének kialakulásában.

7.2. NDC-os betegeinket vizsgálva jelentős arányban észleltük a tüdőfibrózis előfordulását, mely szervi elváltozás döntő többségében enyhe eltérésnek bizonyult.

7.3. A világon elsőként írtuk le NDC-ban észlelt alveolitisz limfociták, míg SSc esetén hazánkban elsőként igazoltuk az alveolitisz granulociták típusát.

7.4. Hazánkban elsőként igazoltuk az alveoláris térben észlelt sejtarányváltozások hátterében a CD8 pozitív limfociták felszaporodását SSc esetén.

7.5. Az alveoláris makrofágok alveolitisz esetén tapasztalható felszaporodásában a világon elsőként igazoltuk az alveoláris makrofágok lokális proliferációját, mely szoros összefüggést mutatott a granulociták arányával, illetve a granulociták alveolitisz kiterjedésének nagyságával. Ezek alapján a Ki-67 proliferációs antigén a granulociták alveolitisz új aktivitási markerének tekinthető.

7.6. Hazánkban elsőként írtuk le az alveoláris makrofágok proinflammatorikus citokinjeinek fokozott termelését SSc esetén.

7.7. Sikeresen alkalmaztuk a 6 paraméteres áramlási citometriát az egyes kórképekben észlelhető citokinegyensúly feltérképezéséhez. Ezen módszerrel a világon elsőként igazoltuk Wegener granulomatózisban a megváltozott citokin-egyensúly normalizálhatóságát immunszuppresszív kezelés alkalmazásával, mely egyben klinikai regresszióval is járt.

8. Összefoglalás

Munkánk fő célja a szisztémás autoimmun kórképek pulmonális vonatkozásainak, mint az egyik leggyakrabban érintett, s prognosztikai szempontból is kiemelt jelentőségű szerv érintettségének vizsgálata volt.

Munkánk során igazoltuk a szerves oldószerek, mint provokatív környezeti faktorok szerepét SSc kialakulásában, melyben a tüdő a környezeti hatás támadáspontjaként jut fontos szerephez. Ezen és más környezeti tényezők hatására - genetikai „fogékonyság” esetén – olyan folyamatok indulnak be, melyek kezdetben szubklinikai szinten zajlanak, ezért csak megfelelően érzékeny módszerekkel mutathatók ki. A klinikum alapján a később kiteljesedő betegség kezdetben gyakran még nem egyértelműen megállapítható, ellenben a kezelés korai elkezdése nagyon fontos. A beteg szervenkénti vizsgálata javasolható még abban az esetben is, ha nincs a szerv megbetegedésére utaló panasza a betegnek. Ez amiatt is fontos, mert definitív kórképek, így például SSc esetén is ismert az a tény, hogy aktív gyulladás mutatható ki olyan betegek alveoláris terében is, akiknek nincs szubjektív panasza, vagy akár még csak radiológiai jel sem észlelhető. Az alveolitisz közelebbi vizsgálata során mind a nem-specifikus, mind a specifikus elemeket vizsgáltuk. Az alveoláris makrofágok szerepének fontosságát jelzi SSc-ban az emelkedett proliferációs index (amit új aktivitási jelnek tekinthetünk granulociták alveolitiszben), illetve a szignifikánsan emelkedett proinflammatorikus citokin-termelésük. Kiemelendő az az eredményünk is, mely Wegener granulomatózisban a gyulladásos citokinek fokozott termelésének visszaszoríthatóságát írta le monocitákban, immunszuppresszív kezelés alkalmazásakor. Az alveolitisz specifikus elemeinek, a limfociták vizsgálata során igazoltuk SSc-ban a CD8 pozitív T-sejtek magas arányát, illetve elsőként igazoltuk NDC

esetén az alveolitisz limfocitás típusát. A limfociták citokintermelésének, illetve az egyes kórképek citokin-mintázatának különbségei, Th1/Th2 megoszlásának pontosabb megismerése, ennek az alveolitisz lefolyásában betöltött szerepének kutatása képezi munkánk folytatásának egyik fő irányát.

9. Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani Dr. Czirják László professzor úrnak, aki témavezetőként önálló téma és kutatás lehetőségét adta számomra. Munkámat mindvégig segítően irányította, támogatta.

Köszönet illeti mindazon kollégáimat, munkatársaimat, akik munkájukkal, tanácsaikkal nagymértékben hozzájárultak eredményeim megszületéséhez, ezen értekezés létrejöttéhez. Először is külön köszönettel tartozom Dr. Tóvári Eszternek és Dr. Nagy Zoltánnak, akik a betegek gondozó orvosaiként a legmesszebbmenőig rendelkezésemre bocsátották a betegeikkel kapcsolatos adatokat, információkat, és segítettek azok feldolgozásában. Segítségükkel jött létre munkám klinikai vonatkozású része.

Ugyancsak jelentős segítséget kaptam Dr. Németh Pétertől, Dr. Berki Tímeától, Dr. Balogh Pétertől és Dr. Zibotics Hildától, akik végig érdeklődéssel figyelték munkámat, s akiktől mind elméleti, mind gyakorlati vonatkozásban sok tanácsot, segítséget kaptam.

Köszönettel tartozom Dr. Komócsi András, Dr. Szekeres György, Dr. Lustyik György, Dr. Zoltán Ildikó, Dr. TóthTivadar, Dr. Sárosi Veronika, Dr. Vereb Éva, Dr. Dévényi Katalin és Dr. Juhász Erzsébet kollégáimnak az általuk nyújtott értékes segítségért.

Külön köszönettel tartozom intézetünk laboratóriumi dolgozóinak, Zentai Jánosnének és Farkas Ibolyának, hogy munkámban – nagy erőfeszítéseket téve – segítettek.

Más intézetekkel végzett kollaborációban nyújtott jelentős segítséget Dr. Paál Mária (Baranya Megyei Vérellátó Intézet) és Dr. Falus András (Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai intézet, SOTE), akiknek ezúton köszönöm meg támogatásukat.

Köszönöm Újhelyi Eszternek és Mandy Ferencnek, hogy munkájukkal, tanácsaikkal segítették módszertani ismereteim elmélyülését.

Köszönet illeti Elena Csernokot, Armin Schnabelt, W.L. Gross professzort és a bad bramstedti Reumatológiai Klinika többi dolgozóját a Wegener granulomatózissal kapcsolatos munkáimban nyújtott segítségükért.

Külön köszönettel tartozom barátaimnak, Dr. Soós Zsuzsannának, Dr. Kiss Bernadettnek, Dr. Oláh Szilviának, Dr. Kiss Rudolfnak és Grama Lászlónak a munkám során nyújtott elengedhetetlen segítségükért.

Köszönöm szüleimnek, testvéremnek, menyasszonyomnak türelmüket, s hálával tartozom támogatásukért, mellyel az elmúlt évek során munkámat lehetővé tették.

10. Rövidítések

NDC	Nem differenciált kollagenózis
SSc	Systemás sclerosis
LcSSc	Limitált cutan systemás sclerosis
DcSSc	Diffúz cutan systemás sclerosis
WG	Wegener granulomatosis
DM/PM	Dermatomyositis/Polymyositis
SLE	Sytemás lupus erythematosus
RA	Rheumatoid arthritis
SS	Sjögren szindróma
MCTD	Kevert kötőszöveti betegség
IPF	Idiopathiás pulmonális fibrózis
BAL	Bronchoalveoláris lavage
HRCT	Nagy felbontású computer tomograph
ANCA	Anti-neutrofil citoplazmatikus antitest
ANA	Anti-nukleáris antitest
DLCO	Szénmonoxid diffúziós kapacitás
DLCO/VA	Szénmonoxid diffúziós koefficiens
Th	T-helper limfocita
Tc	Cytotoxikus T-sejt
ARA	Amerikai Reumatológiai Társaság
CD	Differenciálódási antigén
GVHD	„Graft versus host disease”

HLA	Human leukocita antigén
PMA	Phorbol myristil acetat
LPS	Lipopolyszacharid
FCS	„Fetal calf serum”
BSA	„Bovine serum albumin”
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IFN	Interferon
TNF	Tumor nekrosis faktor
TGF	Transzformáló növekedési faktor
PDGF	Trombocitából származtatott növekedési faktor
PMN	polimorfonukleáris sejt
CRP	C-reaktív protein
ELISA	„Enzyme-linked immunoassay”
CPH	Cyclophosphamid
MP	Methylprednisolon

11. Hivatkozások

1. Arsur, E. L.; Greenberg, A. S.: Adverse impact of interstitial pulmonary fibrosis on prognosis in polymyositis and dermatomyositis. *Semin. Arthritis Rheum.* 1988., 18.: 29-37.
2. Konig, G.; Behr, J.; Luderschmidt, C.: New knowledge on the diagnosis and prognosis of interstitial lung disease in scleroderma. *Z. Rheumatol.* 1990., 49.: 279-283.
3. Steen, V. D.; Powell, D. L.; Medsger, T. A., Jr.: Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1988., 31.: 196-203.
4. Dévényi, K.; Czirják, L.: High resolution computed tomography for the evaluation of lung involvement in 101 patients with scleroderma. *Clin. Rheumatol.* 1995., 14.: 633-640.
5. Nagy, Z.; Czirják, L.: Predictors of survival in 171 patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Clin. Rheumatol.* 1997., 16.: 454-460.
6. Bombardier, C.; Gladman, D. D.; Urowitz, M. B.; Caron, D.; Chang, C. H.: Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum.* 1992., 35.: 630-640.
7. Drenkard, C.; Alarcón-Segovia, D.: The new prognosis of systemic lupus erythematosus: treatment-free remission and decreased mortality and morbidity. *Isr. Med. Assoc. J.* 2000., 2.: 382-387.
8. Illei, G.; Czirják, L.: Novel approaches in the treatment of lupus nephritis. *Expert. Opin. Investig. Drugs* 2001., 10.: 1117-1130.
9. Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis, and selected comparison groups. The BAL Cooperative Group Steering Committee. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990., 141.: S169-202.
10. Daniele, R. P.; Elias, J. A.; Epstein, P. E.; Rossman, M. D.: Bronchoalveolar lavage: role in the pathogenesis, diagnosis, and management of interstitial lung disease. *Ann. Intern. Med.* 1985., 102.: 93-108.
11. Kumánovics, G.; Zibotics, H.; Komócsi, A.; Czirják, L.: Pulmonális fibrózis, alveolitis systemás autoimmun kórképekben. *Allergológia és Klinikai Immunológia* 2001., 4.: 98-106.

12. Jimenez, S. A.: New insights into the pathogenesis of interstitial pulmonary fibrosis. *Thorax* 1994., 49.: 193-195.
13. Furst, D. E.; Clements, P. J.: Pathogenesis, Fusion (Summary). 1996., 275-284.
14. Caputi, M.; Guarino, C.; Perna, F.; Grella, E.; Muto, M.; Marzo, C.: Correlation between functional and radiographic data, and broncho- alveolar cytology in patients with diffuse interstitial lung disease. *Minerva. Med.* 1998., 89.: 203-210.
15. De Wall, N.; Endres, P.: Bronchoalveolar lavage in fibrosing alveolitis--a parameter for evaluating activity and prognosis? *Pneumologie.* 1991., 45.: 785-789.
16. Rudd, R. M.; Haslam, P. L.; Turner-Warwick, M.: Cryptogenic fibrosing alveolitis. Relationships of pulmonary physiology and bronchoalveolar lavage to response to treatment and prognosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1981., 124.: 1-8.
17. Schmidt, M.; Brugger, E.; Heinrich, J.: Proteolytic activities in bronchoalveolar lavage fluid of interstitial lung diseases: correlation to stage and prognosis. *Respiration* 1987., 52.: 115-121.
18. Valentini, G.; Della Rossa, A.; Bombardieri, S.; Bencivelli, W.; Silman, A. J.; D'Angelo, S.; Cerinic, M. M.; Belch, J. F.; Black, C. M.; Bruhlmann, P.; Czirják, L.; De Luca, A.; Drosos, A. A.; Ferri, C.; Gabrielli, A.; Giacomelli, R.; Hayem, G.; Inanc, M.; McHugh, N. J.; Nielsen, H.; Rosada, M.; Scorza, R.; Stork, J.; Sysa, A.; van den Hoogen, F. H.; Vlachoyiannopoulos, P. J.: European multicentre study to define disease activity criteria for systemic sclerosis. II. Identification of disease activity variables and development of preliminary activity indexes. *Ann. Rheum. Dis.* 2001., 60.: 592-598.
19. Kumánovics, G.; Zibotics, H.; Juh'sz, E.; Komócsi, A.; Czirják, L.: Subclinical pulmonary involvement assessed by bronchoalveolar lavage in patients with early undifferentiated connective tissue disease. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2001., 19.: 551-559.
20. Komócsi, A.; Kumánovics, G.; Zibotics, H.; Czirják, L.: Alveolitis may persist during treatment that sufficiently controls muscle inflammation in myositis. *Rheumatol. Int.* 2001., 20.: 113-118.
21. Briggs, D. C.; Vaughan, R. W.; Welsh, K. I.; Myers, A.; duBois, R. M.; Black, C. M.: Immunogenetic prediction of pulmonary fibrosis in systemic sclerosis. *Lancet* 1991., 338.: 661-662.

22. Avila, J. J.; Lympny, P. A.; Pantelidis, P.; Welsh, K. I.; Black, C. M.; du Bois, R. M.: Fibronectin gene polymorphisms associated with fibrosing alveolitis in systemic sclerosis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1999. Jan. 1999., 20.: 106-112.
23. Haustein, U. F.; Ziegler, V.: Environmentally induced systemic sclerosis-like disorders. *Int. J. Dermatol.* 1985., 24.: 147-151.
24. Seyer, J. M.; Kang, A. H.; Rodnan, G.: Investigation of type I and type III collagens of the lung in progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1981., 24.: 625-631.
25. Specks, U.; Nerlich, A.; Colby, T. V.; Wiest, I.; Timpl, R.: Increased expression of type VI collagen in lung fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995., 151.: 1956-1964.
26. Cantin, A. M.; Boileau, R.; Begin, R.: Increased procollagen III aminoterminal peptide-related antigens and fibroblast growth signals in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988., 137.: 572-578.
27. Pardo, A.; Selman, M.; Ramirez, R.; Ramos, C.; Montano, M.; Stricklin, G.; Raghu, G.: Production of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases by fibroblasts derived from normal and fibrotic human lungs. *Chest* 1992., 102.: 1085-1089.
28. Kikuchi, K.; Kubo, M.; Sato, S.; Fujimoto, M.; Tamaki, K.: Serum tissue inhibitor of metalloproteinases in patients with systemic sclerosis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1995., 33.: 973-978.
29. Bjermer, L.; Lundgren, R.; Hallgren, R.: Hyaluronan and type III procollagen peptide concentrations in bronchoalveolar lavage fluid in idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax* 1989., 44.: 126-131.
30. Harrison, N. K.; Myers, A. R.; Corrin, B.; Soosay, G.; Dewar, A.; Black, C. M.; du Bois, R. M.; Turner Warwick, M.: Structural features of interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991., 144.: 706-713.
31. Cailles, J. B.; O'Connor, C.; Pantelidis, P.; Southcott, A. M.; FitzGerald, M. X.; Black, C. M.; du Bois, R. M.: Neutrophil activation in fibrosing alveolitis: a comparison of lone cryptogenic fibrosing alveolitis and systemic sclerosis. *Eur. Respir. J.* 1996., 9.: 992-999.
32. Wells, A. U.; Lorimer, S.; Majumdar, S.; Harrison, N. K.; Corrin, B.; Black, C. M.; Jeffery, P. K.; du Bois, R. M.: Fibrosing alveolitis in systemic sclerosis: increase in memory T- cells in lung interstitium. *Eur. Respir. J.* 1995., 8.: 266-271.

33. Majumdar, S.; Li, D.; Ansari, T.; Pantelidis, P.; Black, C. M.; Gizycki, M.; du Bois, R. M.; Jeffery, P. K.: Different cytokine profiles in cryptogenic fibrosing alveolitis and fibrosing alveolitis associated with systemic sclerosis: a quantitative study of open lung biopsies. *Eur. Respir. J.* 1999., 14. : 251-257.
34. Atamas, S. P.; Yurovsky, V. V.; Wise, R.; Wigley, F. M.; Goter Robinson, C. J.; Henry, P.; Alms, W. J.; White, B.: Production of type 2 cytokines by CD8+ lung cells is associated with greater decline in pulmonary function in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1999., 42. : 1168-1178.
35. Yurovsky, V. V.; Wigley, F. M.; Wise, R. A.; White, B.: Skewing of the CD8+ T-cell repertoire in the lungs of patients with systemic sclerosis. *Hum. Immunol.* 1996., 48. : 84-97.
36. Obayashi, Y.; Yamadori, I.; Fujita, J.; Yoshinouchi, T.; Ueda, N.; Takahara, J.: The role of neutrophils in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 1997., 112. : 1338-1343.
37. Behr, J.; Maier, K.; Krombach, F.; Adelman Grill, B. C.: Pathogenetic significance of reactive oxygen species in diffuse fibrosing alveolitis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991., 144. : 146-150.
38. Garcia, J. G.; James, H. L.; Zinkgraf, S.; Perlman, M. B.; Keogh, B. A.: Lower respiratory tract abnormalities in rheumatoid interstitial lung disease. Potential role of neutrophils in lung injury. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987., 136. : 811-817.
39. Hallgren, R.; Bjermer, L.; Lundgren, R.; Venge, P.: The eosinophil component of the alveolitis in idiopathic pulmonary fibrosis. Signs of eosinophil activation in the lung are related to impaired lung function. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989., 139. : 373-377.
40. Peterson, M. W.; Monick, M.; Hunninghake, G. W.: Prognostic role of eosinophils in pulmonary fibrosis. *Chest* 1987., 92. : 51-56.
41. Czirják, L.; Koncz, A.; Varga, I.; Dévényi, K.; Kumánovics, G.; Szűcs, G.: Investigation of the alveolar macrophages and T lymphocytes in 15 patients with systemic sclerosis. *Clin. Rheumatol.* 1999., 18. : 357-363.
42. Gruschwitz, M. S.; Vieth, G.: Up-regulation of class II major histocompatibility complex and intercellular adhesion molecule 1 expression on scleroderma fibroblasts and endothelial cells by interferon-gamma and tumor necrosis factor alpha in the early disease stage. *Arthritis Rheum.* 1997., 40. : 540-550.
43. Ludwicka, A.; Ohba, T.; Trojanowska, M.; Yamakage, A.; Strange, C.; Smith, E. A.; LeRoy, E. C.; Sutherland, S.; Silver, R. M.: Elevated levels of platelet derived growth factor and transforming growth factor-beta 1 in

bronchoalveolar lavage fluid from patients with scleroderma. *J. Rheumatol.* 1995., 22.: 1876-1883.

44. Kapanci, Y.; Desmouliere, A.; Pache, J. C.; Redard, M.; Gabbiani, G.: Cytoskeletal protein modulation in pulmonary alveolar myofibroblasts during idiopathic pulmonary fibrosis. Possible role of transforming growth factor beta and tumor necrosis factor alpha. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995., 152.: 2163-2169.
45. Lurton, J.; Soto, H.; Narayanan, A. S.; Raghu, G.: Regulation of human lung fibroblast C1q-receptors by transforming growth factor-beta and tumor necrosis factor-alpha. *Exp. Lung Res.* 1999., 25.: 151-164.
46. Raghu, G.; Masta, S.; Meyers, D.; Narayanan, A. S.: Collagen synthesis by normal and fibrotic human lung fibroblasts and the effect of transforming growth factor-beta. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989., 140.: 95-100.
47. Furuie, H.; Yamasaki, H.; Suga, M.; Ando, M.: Altered accessory cell function of alveolar macrophages: a possible mechanism for induction of Th2 secretory profile in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur. Respir. J.* 1997., 10.: 787-794.
48. Manganelli, P.; Salaffi, F.; Pesci, A.: Clinical and subclinical alveolitis in connective tissue diseases assessed by bronchoalveolar lavage. *Semin. Arthritis Rheum.* 1997., 26.: 740-754.
49. Hasegawa, M.; Sato, S.; Takehara, K.: Augmented production of chemokines (monocyte chemotactic protein- 1 (MCP- 1), macrophage inflammatory protein-1alpha (MIP-1alpha) and MIP-1beta) in patients with systemic sclerosis: MCP-1 and MIP- 1alpha may be involved in the development of pulmonary fibrosis. *Clin. Exp. Immunol.* 1999., 117.: 159-165.
50. Saleh, D.; Furukawa, K.; Tsao, M. S.; Maghazachi, A.; Corrin, B.; Yanagisawa, M.; Barnes, P. J.; Giaid, A.: Elevated expression of endothelin-1 and endothelin-converting enzyme-1 in idiopathic pulmonary fibrosis: possible involvement of proinflammatory cytokines. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1997., 16.: 187-193.
51. Kikuchi, K.; Kubo, M.; Kadono, T.; Yazawa, N.; Ihn, H.; Tamaki, K.: Serum concentrations of vascular endothelial growth factor in collagen diseases. *Br. J. Dermatol.* 1998., 139.: 1049-1051.
52. Kahaleh, M. B.; Fan, P. S.; Otsuka, T.: Gammadelta receptor bearing T cells in scleroderma: enhanced interaction with vascular endothelial cells in vitro. *Clin. Immunol.* 1999., 91.: 188-195.

53. Marzano, A. V.; Federici, A. B.; Gasparini, G.; Mannucci, P. M.; Caputo, R.; Berti, E.: Coagulation factor XIII, endothelial damage and systemic sclerosis. *Eur. J. Dermatol.* 2000., 10.: 14-17.
54. Wilborn, J.; Crofford, L. J.; Burdick, M. D.; Kunkel, S. L.; Strieter, R. M.; Peters Golden, M.: Cultured lung fibroblasts isolated from patients with idiopathic pulmonary fibrosis have a diminished capacity to synthesize prostaglandin E2 and to express cyclooxygenase-2. *J. Clin. Invest.* 1995., 95.: 1861-1868.
55. Shahar, I.; Fireman, E.; Topilsky, M.; Grief, J.; Schwarz, Y.; Kivity, S.; Ben-Efraim, S.; Spirer, Z.: Effect of endothelin-1 on alpha-smooth muscle actin expression and on alveolar fibroblasts proliferation in interstitial lung diseases. *Int. J. Immunopharmacol.* 1999., 21.: 759-775.
56. Yoshinouchi, T.; Ohtsuki, Y.; Ueda, R.; Sato, S.; Ueda, N.: Myofibroblasts and S-100 protein positive cells in idiopathic pulmonary fibrosis and rheumatoid arthritis-associated interstitial pneumonia. *Eur. Respir. J.* 1999., 14.: 579-584.
57. Czirják, L.; Szolnoki, E.; Nagy, Z.; Szegedi, G.: Changes in pulmonary function in systemic sclerosis. *Postgrad. Med. J.* 1992., 68.: 388-388.
58. Steen, V. D.; Graham, G.; Conte, C.; Owens, G.; Medsger, T. A., Jr.: Isolated diffusing capacity reduction in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1992., 35.: 765-770.
59. Remy Jardin, M.; Remy, J.; Wallaert, B.; Bataille, D.; Hatron, P. Y.: Pulmonary involvement in progressive systemic sclerosis: sequential evaluation with CT, pulmonary function tests, and bronchoalveolar lavage. *Radiology* 1993., 188.: 499-506.
60. Harrison, N. K.; Glanville, A. R.; Strickland, B.; Haslam, P. L.; Corrin, B.; Addis, B. J.; Lawrence, R.; Millar, A. B.; Black, C. M.; Turner Warwick, M.: Pulmonary involvement in systemic sclerosis: the detection of early changes by thin section CT scan, bronchoalveolar lavage and 99mTc-DTPA clearance. *Respir. Med.* 1989., 83.: 403-414.
61. Wells, A. U.; Hansell, D. M.; Rubens, M. B.; Cullinan, P.; Haslam, P. L.; Black, C. M.; du Bois, R. M.: Fibrosing alveolitis in systemic sclerosis. Bronchoalveolar lavage findings in relation to computed tomographic appearance. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994., 150.: 462-468.
62. Wallaert, B.; Hatron, P. Y.; Grosbois, J. M.; Tonnel, A. B.; Devulder, B.; Voisin, C.: Subclinical pulmonary involvement in collagen-vascular diseases assessed by bronchoalveolar lavage. Relationship between alveolitis and

- subsequent changes in lung function. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1986., 133.: 574-580.
63. Crestani, B.; Seta, N.; De Bandt, M.; Soler, P.; Rolland, C.; Dehoux, M.; Boutten, A.; Dombret, M. C.; Palazzo, E.; Kahn, M. F.; et al: Interleukin 6 secretion by monocytes and alveolar macrophages in systemic sclerosis with lung involvement. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994., 149.: 1260-1265.
 64. Frigieri, L.; Mormile, F.; Grilli, N.; Mancini, D.; Ciappi, G.; Pagliari, G.; Magaro, M.; Flamini, G.: Bilateral bronchoalveolar lavage in progressive systemic sclerosis: interlobar variability, lymphocyte subpopulations, and functional correlations. *Respiration* 1991., 58.: 132-140.
 65. Van Hal, P. T.; Wijkhuijs, J. M.; Mulder, P. G.; Hoogsteden, H. C.: Proliferation of mature and immature subpopulations of bronchoalveolar monocytes/macrophages and peripheral blood monocytes. *Cell Prolif.* 1995., 28.: 533-543.
 66. Hoogsteden, H. C.; van Hal, P. T.; Wijkhuijs, J. M.; Hop, W.; Hilvering, C.: Expression of the CD11/CD18 cell surface adhesion glycoprotein family and MHC class II antigen on blood monocytes and alveolar macrophages in interstitial lung diseases. *Lung* 1992., 170.: 221-233.
 67. Striz, I.; Wang, Y. M.; Svarcova, I.; Trnka, L.; Sorg, C.; Costabel, U.: The phenotype of alveolar macrophages and its correlation with immune cells in bronchoalveolar lavage. *Eur. Respir. J.* 1993., 6.: 1287-1294.
 68. Krombach, F.; Gerlach, J. T.; Padovan, C.; Burges, A.; Behr, J.; Beinert, T.; Vogelmeier, C.: Characterization and quantification of alveolar monocyte-like cells in human chronic inflammatory lung disease. *Eur. Respir. J.* 1996., 9.: 984-991.
 69. Pforte, A.; Gerth, C.; Voss, A.; Beer, B.; Haussinger, K.; Jutting, U.; Burger, G.; Ziegler Heitbrock, H. W.: Proliferating alveolar macrophages in BAL and lung function changes in interstitial lung disease. *Eur. Respir. J.* 1993., 6.: 951-955.
 70. Zsiray, M.; Appel, J.; Lantos, A.: Transbronchial biopsy in diffuse infiltrative lung diseases. *Orv. Hetil.* 1999., 140.: 1239-1243.
 71. Nagai, S.; Satake, N.; Kitaichi, M.; Izumi, T.: Interstitial pneumonia associated with collagen vascular diseases: histological findings, and cells in bronchoalveolar lavage fluid. *Nippon. Kyobu. Shikkan. Gakkai. Zasshi.* 1995., 33 Suppl.: 258-263.

72. Szegedi, A.; Czirják, L.; Unkeless, J. C.; Boros, P.: Serum cytokine and anti-Fc gamma R autoantibody measurements in patients with systemic sclerosis. *Acta Derm. Venereol.* 1996., 76.: 21-23.
73. Romagnani, S.: T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2000. 85.: 9-18.
74. Giacomelli, R.; Cipriani, P.; Fulminis, A.; Barattelli, G.; Matucci-Cerinic, M.; D'Alo, S.; Cifone, G.; Tonietti, G.: Circulating gamma/delta T lymphocytes from systemic sclerosis (SSc) patients display a T helper (Th) 1 polarization. *Clin. Exp. Immunol.* 2001., 125.: 310-315.
75. Morimoto, S.; Tokano, Y.; Kaneko, H.; Nozawa, K.; Amano, H.; Hashimoto, H.: The increased interleukin-13 in patients with systemic lupus erythematosus: relations to other Th1-, Th2-related cytokines and clinical findings. *Autoimmunity* 2001., 34.: 19-25.
76. Theofilopoulos, A. N.; Koundouris, S.; Kono, D. H.; Lawson, B. R.: The role of IFN-gamma in systemic lupus erythematosus: a challenge to the Th1/Th2 paradigm in autoimmunity. *Arthritis Res.* 2001., 3.: 136-41.
77. Youn, J.; Hwang, S. H.; Cho, C. S.; Min, J. K.; Kim, W. U.; Park, S. H.; Kim, H. Y.: Association of the interleukin-4 receptor alpha variant Q576R with Th1/Th2 imbalance in connective tissue disease. *Immunogenetics* 2000., 51.: 743-746.
78. Ludviksson, B. R.; Sneller, M. C.; Chua, K. S.; Talar-Williams, C.; Langford, C. A.; Ehrhardt, R. O.; Fauci, A. S.; Strober, W.: Active Wegener's granulomatosis is associated with HLA-DR+ CD4+ T cells exhibiting an unbalanced Th1-type T cell cytokine pattern: reversal with IL-10. *J. Immunol.* 1998., 160.: 3602-3609.
79. Csernok, E.; Trabandt, A.; Müller, A.; Wang, G. C.; Moosig, F.; Paulsen, J.; Schnabel, A.; Gross, W. L.: Cytokine profiles in Wegener's granulomatosis: predominance of type 1 (Th1) in the granulomatous inflammation. *Arthritis Rheum.* 1999., 42.: 742-750.
80. Scaletti, C.; Vultaggio, A.; Bonifacio, S.; Emmi, L.; Torricelli, F.; Maggi, E.; Romagnani, S.; Piccinni, M. P.: Th2-oriented profile of male offspring T cells present in women with systemic sclerosis and reactive with maternal major histocompatibility complex antigens. *Arthritis Rheum.* 2002., 46.: 445-450.
81. Valentini, G.; Baroni, A.; Esposito, K.; Naclerio, C.; Buommino, E.; Farzati, A.; Cuomo, G.; Farzati, B.: Peripheral blood T lymphocytes from systemic sclerosis patients show both Th1 and Th2 activation. *J. Clin. Immunol.* 2001., 21.: 210-217.

82. Steen, V. D.; Owens, G. R.; Fino, G. J.; Rodnan, G. P.; Medsger, T. A., Jr.: Pulmonary involvement in systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum.* 1985., 28. : 759-767.
83. LeRoy, E. C.; Black, C.; Fleischmajer, R.; Jablonska, S.; Krieg, T.; Medsger, T. A., Jr.; Rowell, N.; Wollheim, F.: Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J. Rheumatol.* 1988., 15. : 202-205.
84. MacGregor, A. J.; Canavan, R.; Knight, C.; Denton, C. P.; Davar, J.; Coghlan, J.; Black, C. M.: Pulmonary hypertension in systemic sclerosis: risk factors for progression and consequences for survival. *Rheumatology. (Oxford).* 2001., 40. : 453-9.
85. Komócsi, A.; Tóvári, E.; Kovács, J.; Czirják, L.: Physical injury as a provoking factor in three patients with scleroderma. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2000., 18. : 622-624.
86. Brasington, R. D., Jr.; Thorpe Swenson, A. J.: Systemic sclerosis associated with cutaneous exposure to solvent: case report and review of the literature. *Arthritis Rheum.* 1991., 34. : 631-633.
87. Bottomley, W. W.; Sheehan Dare, R. A.; Hughes, P.; Cunliffe, W. J.: A sclerodermatous syndrome with unusual features following prolonged occupational exposure to organic solvents. *Br. J. Dermatol.* 1993., 128. : 203-206.
88. Famularo, G.; De Simone, C.; Danese, C.: Carnitine deficiency in scleroderma. *Immunol. Today* 1999., 20. : 246-246.
89. Mayes, M. D.: Epidemiologic Studies of Environmental Agents and Systemic Autoimmune Diseases. *Environ. Health Perspect.* 1999., 107. : 743-748.
90. Garcia Zamalloa, A. M.; Ojeda, E.; Gonzalez Beneitez, C.; Goni, J.; Garrido, A.: Systemic sclerosis and organic solvents: early diagnosis in industry. *Ann. Rheum. Dis.* 1994., 53. : 618-618.
91. Czirják, L.; Csiki, Z.; Nagy, Z.; Tóth, E.: Exposure to chemicals and systemic sclerosis. *Ann. Rheum. Dis.* 1995., 54. : 529-529.
92. Czirják, L.; Pócs, E.; Szegedi, G.: Localized scleroderma after exposure to organic solvents. *Dermatology.* 1994., 189. : 399-401.
93. Bovenzi, M.; Barbone, F.; Betta, A.; Tommasini, M.; Versini, W.: Scleroderma and occupational exposure. *Scand. J. Work. Environ. Health* 1995., 21. : 289-292.

94. Altomonte, A.; Zoli, A.; Galossi, A.; Mancusa, L.; Mirone, L.; Magnavita, N.; Federico, F.; Magaro, M.: Scleroderma-like disease following occupational exposure to organic solvents. *Clin. Rheumatol.* 1996., 15. : 416-417.
95. Flindt Hansen, H.; Isager, H.: Scleroderma after occupational exposure to trichlorethylene and trichlorethane. *Acta Derm. Venereol.* 1987., 67. : 263-264.
96. Lockey, J. E.; Kelly, C. R.; Cannon, G. W.; Colby, T. V.; Aldrich, V.; Livingston, G. K.: Progressive systemic sclerosis associated with exposure to trichloroethylene. *J. Occup. Med.* 1987., 29. : 493-496.
97. Sverdrup, B.: Do workers in the manufacturing industry run an increased risk of getting scleroderma?. *Int. J. Dermatol.* 1984., 23. : 629-629.
98. Czirják, L.; Schlamadinger, J.; Szegedi, G.: Systemic sclerosis and exposure to trichloroethylene. *Dermatology.* 1993., 186. : 236-237.
99. Czirják, L.; Szegedi, G.: Benzene exposure and systemic sclerosis. *Ann. Intern. Med.* 1987., 107. : 118-118.
100. Owens, G. R.; Medsger, T. A.: Systemic sclerosis secondary to occupational exposure. *Am. J. Med.* 1988., 85. : 114-116.
101. Yanez Diaz, S.; Moran, M.; Unamuno, P.; Armijo, M.: Silica and trichloroethylene-induced progressive systemic sclerosis. *Dermatology.* 1992., 184. : 98-102.
102. Haustein, U. F.; Ziegler, V.: Scleroderma and scleroderma-like diseases caused by environmental pollutants. *Derm. Beruf. Umwelt.* 1986., 34. : 61-67.
103. Saihan, E. M.; Burton, J. L.; Heaton, K. W.: A new syndrome with pigmentation, scleroderma, gynaecomastia, Raynaud's phenomenon and peripheral neuropathy. *Br. J. Dermatol.* 1978., 99. : 437-440.
104. Nietert, P. J.; Sutherland, S. E.; Silver, R. M.; Pandey, J. P.; Knapp, R. G.; Hoel, D. G.; Dosemeci, M.: Is occupational organic solvent exposure a risk factor for scleroderma? *Arthritis Rheum.* 1998., 41. : 1111-1118.
105. Nietert, P. J.; Sutherland, S. E.; Silver, R. M.; Pandey, J. P.; Dosemeci, M.: Solvent oriented hobbies and the risk of systemic sclerosis. *J. Rheumatol.* 1999., 26. : 2369-2372.
106. Yamakage, A.; Ishikawa, H.: Generalized morphea-like scleroderma occurring in people exposed to organic solvents. *Dermatologica* 1982., 165. : 186-193.

107. Czirják, L.; Bokk, Á.; Csontos, G.; Lőrincz, G.; Szegedi, G.: Clinical findings in 61 patients with progressive systemic sclerosis. *Acta Derm. Venereol.* 1989., 69.: 533-536.
108. Czirják, L.; Dankó, K.; Schlamadinger, J.; Surányi, P.; Tamási, L.; Szegedi, G.: Progressive systemic sclerosis occurring in patients exposed to chemicals. *Int. J. Dermatol.* 1987., 26.: 374-378.
109. Silman, A. J.; Jones, S.: What is the contribution of occupational environmental factors to the occurrence of scleroderma in men? *Ann. Rheum. Dis.* 1992., 51.: 1322-1324.
110. Alarcón, G. S.; Williams, G. V.; Singer, J. Z.; Steen, V. D.; Clegg, D. O.; Paulus, H. E.; Billingsley, L. M.; Luggen, M. E.; Polisson, R. P.; Willkens, R. F.; et al: Early undifferentiated connective tissue disease. I. Early clinical manifestation in a large cohort of patients with undifferentiated connective tissue diseases compared with cohorts of well established connective tissue disease. *J. Rheumatol.* 1991., 18.: 1332-1339.
111. Kallenberg, C. G.: Early detection of connective tissue disease in patients with Raynaud's phenomenon. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 1990., 16.: 11-30.
112. Mau, W.; Raspe, H. H.; Mersjann, H.: Early arthritides: nosography, nosology, and diagnostic criteria. *Scand. J. Rheumatol. Suppl.* 1989., 79.: 3-12.
113. Wolfe, F.; Ross, K.; Hawley, D. J.; Roberts, F. K.; Cathey, M. A.: The prognosis of rheumatoid arthritis and undifferentiated polyarthritis syndrome in the clinic: a study of 1141 patients. *J. Rheumatol.* 1993., 20.: 2005-2009.
114. Bodolay, E.; Szegedi, Gy.: Nem differenciált collagenosisban szenvedő betegek öt éves követésével nyert megfigyelések: 578 beteg klinikai és immunszerezológiai sajátossága, kórlefolyás, terápia. *Orvosi Hetilap* 2002., 143.: 229-233.
115. Wollersheim, H.; Thien, T.; Hoet, M. H.; Van Venrooy, W. J.: 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.: 535-541.
116. Alarcón, G. S.; Willkens, R. F.; Ward, J. R.; Clegg, D. O.; Morgan, J. G.; Ma, K. N.; Singer, J. Z.; Steen, V. D.; Paulus, H. E.; Luggen, M. E.; Polisson, R. P.; Ziminski, C. M.; Yarboro, C.; Williams, H. J.: Early undifferentiated connective tissue disease. IV. Musculoskeletal manifestations in a large cohort of patients with undifferentiated connective tissue diseases compared with cohorts of patients with well-established connective tissue diseases: followup

analyses in patients with unexplained polyarthritis and patients with rheumatoid arthritis at baseline. *Arthritis Rheum.* 1996., 39.: 403-414.

117. Mosca, M.; Neri, R.; Bombardieri, S.: Undifferentiated connective tissue diseases (UCTD): a review of the literature and a proposal for preliminary classification criteria. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1999., 17.: 615-620.
118. Calvo-Alén, J.; Alarcón, G. S.; Burgard, S. L.; Burst, N.; Bartolucci, A. A.; Williams, H. J.: Systemic lupus erythematosus: predictors of its occurrence among a cohort of patients with early undifferentiated connective tissue disease: multivariate analyses and identification of risk factors. *J. Rheumatol.* 1996., 23.: 469-475.
119. Harper, F. E.; Maricq, H. R.; Turner, R. E.; Lidman, R. W.; LeRoy, E. C.: A prospective study of Raynaud phenomenon and early connective tissue disease. A five-year report. *Am. J. Med.* 1982., 72.: 883-888.
120. Danieli, M. G.; Fraticelli, P.; Salvi, A.; Gabrielli, A.; Danieli, G.: Undifferentiated connective tissue disease: natural history and evolution into definite CTD assessed in 84 patients initially diagnosed as early UCTD. *Clin. Rheumatol.* 1998., 17.: 195-201.
121. Bulpitt, K. J.; Clements, P. J.; Lachenbruch, P. A.; Paulus, H. E.; Peter, J. B.; Agopian, M. S.; Singer, J. Z.; Steen, V. D.; Clegg, D. O.; Ziminski, C. M.; et al: Early undifferentiated connective tissue disease: III. Outcome and prognostic indicators in early scleroderma (systemic sclerosis). *Ann. Intern. Med.* 1993., 118.: 602-609.
122. Williams, H. J.; Alarcón, G. S.; Joks, R.; Steen, V. D.; Bulpitt, K.; Clegg, D. O.; Ziminski, C. M.; Luggen, M. E.; St.Clair, E. W.; Willkens, R. F.; Yarboro, C.; Morgan, J. G.; Egger, M. J.; Ward, J. R.: Early undifferentiated connective tissue disease (CTD). VI. An inception cohort after 10 years: disease remissions and changes in diagnoses in well established and undifferentiated CTD. *J. Rheumatol.* 1999., 26.: 816-825.
123. Ohtsuka, T.; Tamura, T.; Yamakage, A.; Yamazaki, S.: The predictive value of quantitative nailfold capillary microscopy in patients with undifferentiated connective tissue disease. *Br. J. Dermatol.* 1998., 139.: 622-629.
124. Mosca, M.; Tavoni, A.; Neri, R.; Bencivelli, W.; Bombardieri, S.: Undifferentiated connective tissue diseases: the clinical and serological profiles of 91 patients followed for at least 1 year. *Lupus.* 1998., 7.: 95-100.
125. Danieli, M. G.; Fraticelli, P.; Franceschini, F.; Cattaneo, R.; Farsi, A.; Passaleva, A.; Pietrogrande, M.; Invernizzi, F.; Vanoli, M.; Scorza, R.; Sabbadini, M. G.; Gerli, R.; Corvetta, A.; Farina, G.; Salsano, F.; Priori, R.;

- Valesini, G.; Danieli, G.: Five-year follow-up of 165 Italian patients with undifferentiated connective tissue diseases. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1999., 17.: 585-591.
126. Williams, H. J.; Alarcón, G. S.; Neuner, R.; Steen, V. D.; Bulpitt, K.; Clegg, D. O.; Ziminski, C. M.; Luggen, M. E.; Polisson, R. P.; Willkens, R. F.; Yarboro, C.; Morgan, J.; Egger, M. J.; Ward, J. R.: Early undifferentiated connective tissue disease. V. An inception cohort 5 years later: disease remissions and changes in diagnoses in well established and undifferentiated connective tissue diseases. *J. Rheumatol.* 1998., 25.: 261-268.
127. Szegedi, Gy.; Bodolay, E.; Czirják, L.; Sonkoly, I.; Surányi, P.; Zeher, M.: Gondolatok a Nem Differenciált Collagenosizról (NDC), illetve a Nem Differenciált Autoimmun Syndromáról (NAS). *Orvosi Hetilap* 1990., 131.: 1735-1739.
128. Groen, H.; Wichers, G.; ter Borg, E. J.; van der Mark, T. W.; Wouda, A. A.; Kallenberg, C. G.: Pulmonary diffusing capacity disturbances are related to nailfold capillary changes in patients with Raynaud's phenomenon with and without an underlying connective tissue disease. *Am. J. Med.* 1990., 89.: 34-41.
129. Kilburn, K. H.; Warshaw, R. H.: Prevalence of symptoms of systemic lupus erythematosus (SLE) and of fluorescent antinuclear antibodies associated with chronic exposure to trichloroethylene and other chemicals in well water. *Environ. Res.* 1992., 57.: 1-9.
130. Lacey, J. V., Jr.; Garabrant, D. H.; Laing, T. J.; Gillespie, B. W.; Mayes, M. D.; Cooper, B. C.; Schottenfeld, D.: Petroleum distillate solvents as risk factors for undifferentiated connective tissue disease (UCTD). *Am. J. Epidemiol.* 1999., 149.: 761-770.
131. Müller, A.; Trabandt, A.; Gloeckner-Hofmann, K.; Seitzer, U.; Csernok, E.; Schonermarck, U.; Feller, A. C.; Gross, W. L.: Localized Wegener's granulomatosis: predominance of CD26 and IFN-gamma expression. *J. Pathol.* 2000., 192.: 113-120.
132. Muller Kobold, A. C.; Kallenberg, C. G.; Tervaert, J. W.: Monocyte activation in patients with Wegener's granulomatosis. *Ann. Rheum. Dis.* 1999., 58.: 237-245.
133. Flowers, J. R.; Clunie, G.; Burke, M.; Constant, O.: Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia: the clinical and radiological features of seven cases and a review of the literature. *Clin. Radiol.* 1992., 45.: 371-377.

134. Deguchi, Y.; Shibata, N.; Kishimoto, S.: Enhanced expression of the tumor necrosis factor/cachectin gene in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic vasculitis. *Clin. Exp. Immunol.* 1990., 81.: 311-314.
135. Specks, U.; Wheatley, C. L.; McDonald, T. J.; Rohrbach, M. S.; DeRemee, R. A.: Anticytoplasmic autoantibodies in the diagnosis and follow-up of Wegener's granulomatosis. *Mayo Clin. Proc.* 1989., 64.: 28-36.
136. Jennette, J. C.; Falk, R. J.: Small-vessel vasculitis. *N. Engl. J. Med.* 1997., 337.: 1512-1523.
137. Csernok, E.; Ernst, M.; Schmitt, W.; Bainton, D. F.; Gross, W. L.: Activated neutrophils express proteinase 3 on their plasma membrane in vitro and in vivo. *Clin. Exp. Immunol.* 1994., 95.: 244-250.
138. Gilligan, H. M.; Bredy, B.; Brady, H. R.; Hebert, M. J.; Slayter, H. S.; Xu, Y.; Rauch, J.; Shia, M. A.; Koh, J. S.; Levine, J. S.: Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies interact with primary granule constituents on the surface of apoptotic neutrophils in the absence of neutrophil priming. *J. Exp. Med.* 1996., 184.: 2231-2241.
139. Fadok, V. A.; Bratton, D. L.; Konowal, A.; Freed, P. W.; Westcott, J. Y.; Henson, P. M.: Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J. Clin. Invest.* 1998., 101.: 890-898.
140. Friedman, A. W.; Targoff, I. N.; Arnett, F. C.: Interstitial lung disease with autoantibodies against aminoacyl-tRNA synthetases in the absence of clinically apparent myositis. *Semin. Arthritis Rheum.* 1996., 26.: 459-467.
141. Czirják, L.; Nagy, Z.; Szegedi, G.: Survival analysis of 118 patients with systemic sclerosis. *J. Intern. Med.* 1993., 234.: 335-337.
142. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum.* 1980., 23.: 581-590.
143. Clegg, D. O.; Williams, H. J.; Singer, J. Z.; Steen, V. D.; Schlegel, S.; Ziminski, C.; Alarcón, G. S.; Luggen, M. E.; Polisson, R. P.; Willkens, R. F.; et al: Early undifferentiated connective tissue disease. II. The frequency of circulating antinuclear antibodies in patients with early rheumatic diseases. *J. Rheumatol.* 1991., 18.: 1340-1343.
144. Tan, E. M.; Cohen, A. S.; Fries, J. F.; Masi, A. T.; McShane, D. J.; Rothfield, N. F.; Schaller, J. G.; Talal, N.; Winchester, R. J.: The 1982 revised criteria for

- the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1982., 25. : 1271-1277.
145. Bohan, A.; Peter, J. B.: Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N. Engl. J. Med.* 1975., 292. : 344-347.
 146. Bohan, A.; Peter, J. B.: Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N. Engl. J. Med.* 1975., 292. : 403-407.
 147. LeRoy, E. C.; Medsger, T. A., Jr.: Raynaud's phenomenon: a proposal for classification. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1992., 10. : 485-488.
 148. Maricq, H. R.: Wide-field capillary microscopy. *Arthritis Rheum.* 1981., 24. : 1159-1165.
 149. Maricq, H. R.: Patterns of finger capillary abnormalities in connective tissue disease by "wide-field" microscopy. *Arthritis Rheum.* 1973., 16. : 619-628.
 150. European Community for Coal and Steel. Standardized function testing.: Report of working party on standardized lung function tests. *Eur. J. Respir. Dis.* 1993., 6. : 5-52.
 151. Mikecz, K.; Sonkoly, I.; Szegedi, Gy.: Szisztémás lupus erythematosusos betegek kórlefolyásának tanulmányozása. *Magyar Reumatológia* 1986., 131-140.
 152. Berki, T.; Kumánovics, G.; Kumánovics, A.; Falus, A.; Újhelyi, E.; Németh, P.: Production and flow cytometric application of a monoclonal anti-glucocorticoid receptor antibody. *J. Immunol. Methods* 1998., 214. : 19-27.
 153. Kumánovics, G.; Magyarlaki, T.; Komócsi, A.; Szekeres, G.; Czirják, L.: Simultaneous presence of neutrophil alveolitis and Ki-67 positivity of alveolar macrophages in dermato/polymyositis and systemic sclerosis. *Rheumatol. Int.* 2003., 23. : 6-10.
 154. Witt, P.; Thomas, E.: Scleroderma and the esophagus. *Ann. Intern. Med.* 1984., 101. : 566-567.
 155. Szekeres, G.: Detection of the Ki-67 antigen in fixed proliferating cells. *Anal. Cell Pathol.* 1993., 5. : 249-250.
 156. Czirják, L.; Dankó, K.; Zeher, M.; Lukács, K.; Szegedi, G.: Function of monocytes in patients with systemic sclerosis. *Acta Med. Hung.* 1988., 45. : 53-61.

157. Lamprecht, P.; Kumánovics, G.; Mueller, A.; Csernok, E.; Komócsi, A.; Trabandt, A.; Gross, W. L.; Schnabel, A.: Elevated monocytic IL-12 and TNF-alpha production in Wegener's granulomatosis is normalized by cyclophosphamide and corticosteroid therapy. *Clin. Exp. Immunol.* 2002., 128.: 181-186.
158. Leavitt, R. Y.; Fauci, A. S.; Bloch, D. A.; Michel, B. A.; Hunder, G. G.; Arend, W. P.; Calabrese, L. H.; Fries, J. F.; Lie, J. T.; Lightfoot, R. W., Jr.; .: The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum.* 1990., 33.: 1101-1107.
159. Jennette, J. C.; Falk, R. J.; Andrassy, K.; Bacon, P. A.; Churg, J.; Gross, W. L.; Hagen, E. C.; Hoffman, G. S.; Hunder, G. G.; Kallenberg, C. G.: Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum.* 1994., 37.: 187-192.
160. De Groot, K.; Gross, W. L.; Herlyn, K.; Reinhold-Keller, E.: Development and validation of a disease extent index for Wegener's granulomatosis. *Clin. Nephrol.* 2001., 55.: 31-38.
161. Luqmani, R. A.; Bacon, P. A.; Moots, R. J.; Janssen, B. A.; Pall, A.; Emery, P.; Savage, C.; Adu, D.: Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS) in systemic necrotizing vasculitis. *QJM.* 1994., 87.: 671-678.
162. Kumánovics, G.; Zibotics, H.; Nagy, Z.; Czirják, L.: Nem differenciált kollagenózisos betegek klinikai jellemzői. *Magyar Reumatológia - közlésre elküldve.*
163. Kumánovics, G.; Komócsi, A.; Czirják, L.: Alveolitis vizsgálata nem differenciált collagenosisban és systemás sclerososisban. *Magyar Immunológiai Társaság 1999. évi Kongresszusa, Bük.* 1999. október 27-29.
164. Buhl, R.; Meier Sydow, J.; Vogelmeier, C.: Pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Immun. Infekt.* 1995., 23.: 92-96.
165. Turner Warwick, M.; Haslam, P. L.: The value of serial bronchoalveolar lavages in assessing the clinical progress of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987., 135.: 26-34.
166. Groen, H.; Hamstra, M.; Aalbers, R.; van der Mark, T. W.; Koeter, G. H.; Postma, D. S.: Clinical evaluation of lymphocyte sub-populations and oxygen radical production in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir. Med.* 1994., 88.: 55-64.
167. Hatron, P. Y.; Wallaert, B.; Gosset, D.; Tonnel, A. B.; Gosselin, B.; Voisin, C.; Devulder, B.: Subclinical lung inflammation in primary Sjogren's syndrome.

- Relationship between bronchoalveolar lavage cellular analysis findings and characteristics of the disease. *Arthritis Rheum.* 1987., 30.: 1226-1231.
168. Salaffi, F.; Carotti, M.; Baldelli, S.; Bichi Secchi, E.; Manganelli, P.; Subiaco, S.; Salvolini, L.: Subclinical interstitial lung involvement in rheumatic diseases. Correlation of high resolution computerized tomography and functional and cytologic findings. *Radiol. Med. (Torino)*. 1999., 97.: 33-41.
169. Salaffi, F.; Manganelli, P.; Carotti, M.; Baldelli, S.; Blasetti, P.; Subiaco, S.; Binci, M. C.; Bichi Secchi, E.; Amici, F.; Cervini, C.: A longitudinal study of pulmonary involvement in primary Sjogren's syndrome: relationship between alveolitis and subsequent lung changes on high-resolution computed tomography. *Br. J. Rheumatol.* 1998., 37.: 263-269.
170. Salaffi, F.; Manganelli, P.; Carotti, M.; Subiaco, S.; Lamanna, G.; Cervini, C.: Methotrexate-induced pneumonitis in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis: report of five cases and review of the literature. *Clin. Rheumatol.* 1997., 16.: 296-304.
171. Wallaert, B.; Dugas, M.; Dansin, E.; Perez, T.; Marquette, C. H.; Ramon, P.; Tonnel, A. B.; Voisin, C.: Subclinical alveolitis in immunological systemic disorders. Transition between health and disease? *Eur. Respir. J.* 1990., 3.: 1206-1216.
172. Czirják, L.; Kumánovics, G.: Exposure to solvents in female patients with scleroderma. *Clin. Rheumatol.* 2002., 21.: 114-118.
173. Czirják, L.; Zibotics, H.; Pfund, Z.; Gáti, I.; Varjú, C.; Komócsi, A.; Kumánovics, G.: Szervi manifesztációk vizsgálata gyulladásoos myopathiákban. *Magyar Reumatológia* 2000., 211-215.
174. Komócsi, A.; Kumánovics, G.; Czirják, L.: A Wegener granulomatózis. *Allergológia és Klinikai Immunológia* 2001., 4.: 1-7.
175. Komócsi, A.; Kumánovics, G.; Czirják, L.: A Wegener granulomatózisról 11 beteg kapcsán. *Magyar Reumatológia* 2001., 42.: 79-84.
176. Bianchi, D. W.; Zickwolf, G. K.; Weil, G. J.; Sylvester, S.; DeMaria, M. A.: Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1996., 93.: 705-708.
177. Artlett, C. M.; Cox, L. A.; Jimenez, S. A.: Detection of cellular microchimerism of male or female origin in systemic sclerosis patients by polymerase chain reaction analysis of HLA-Cw antigens. *Arthritis Rheum.* 2000., 43.: 1062-1067.

178. Evans, P. C.; Lambert, N.; Maloney, S.; Furst, D. E.; Moore, J. M.; Nelson, J. L.: Long-term fetal microchimerism in peripheral blood mononuclear cell subsets in healthy women and women with scleroderma. *Blood* 1999., 93.: 2033-2037.
179. Artlett, C. M.; Welsh, K. I.; Black, C. M.; Jimenez, S. A.: Fetal-maternal HLA compatibility confers susceptibility to systemic sclerosis. *Immunogenetics* 1998., 47.: 17-22.
180. Scaletti, C.; Vultaggio, A.; Maggi, E.; Romagnani, S.; Piccinni, M. P.: Microchimerism and systemic sclerosis. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2001., 125.: 196-202.
181. Eckert, H.; Dvorakovskaja, I. W.; Jerochin, W. W.; Chernjakova, D. N.: Morphologic studies in fibrosing alveolitis. I. Content of alveolar macrophages and lymphocytes in lung parenchyma in correlation with the duration of the disease. *Z. Erkr. Atmungsorgane.* 1988., 170.: 167-171.
182. Haslam, P. L.; Dewar, A.; Butchers, P.; Primett, Z. S.; Newman Taylor, A.; Turner Warwick, M.: Mast cells, atypical lymphocytes, and neutrophils in bronchoalveolar lavage in extrinsic allergic alveolitis. Comparison with other interstitial lung diseases. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987., 135.: 35-47.
183. Heard, B. E.; Dewar, A.; Corrin, B.: Apposition of fibroblasts to mast cells and lymphocytes in normal human lung and in cryptogenic fibrosing alveolitis. Ultrastructure and cell perimeter measurements. *J. Pathol.* 1992., 166.: 303-310.
184. Mornex, J. F.; Cordier, G.; Revillard, J. P.: Criteria for T-lymphocyte activation in alveolitis. *Rev. Fr. Mal. Respir.* 1983., 11.: 787-812.
185. Barriere, H.; Moigneteau, C.; Lajarte de: Pulmonary fibrosis, a major symptom of scleroderma. Histological data. *Bull. Soc. Fr. Dermatol. Syphiligr.* 1969., 76.: 239-241.
186. Giacomelli, R.; Valentini, G.; Salsano, F.; Cipriani, P.; Sambo, P.; Conforti, M. L.; Fulminis, A.; De, L. A.; Farina, G.; Candela, M.; Generini, S.; De, F. A.; Tirri, E.; Proietti, M.; Bombardieri, S.; Gabrielli, A.; Toniatti, G.; Cerinic, M. M.: Cyclophosphamide pulse regimen in the treatment of alveolitis in systemic sclerosis. *J. Rheumatol.* 2002., 29.: 731-736.
187. Owens, G. R.; Paradis, I. L.; Gryzan, S.; Medsger, T. A., Jr.; Follansbee, W. P.; Klein, H. A.; Dauber, J. H.: Role of inflammation in the lung disease of systemic sclerosis: comparison with idiopathic pulmonary fibrosis. *J. Lab. Clin. Med.* 1986., 107.: 253-260.

188. Wells, A. U.; Hansell, D. M.; Haslam, P. L.; Rubens, M. B.; Cailles, J.; Black, C. M.; du Bois, R. M.: Bronchoalveolar lavage cellularity: lone cryptogenic fibrosing alveolitis compared with the fibrosing alveolitis of systemic sclerosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998., 157.: 1474-1482.
189. White, B.; Moore, W. C.; Wigley, F. M.; Xiao, H. Q.; Wise, R. A.: Cyclophosphamide is associated with pulmonary function and survival benefit in patients with scleroderma and alveolitis. *Ann. Intern. Med.* 2000., 132.: 947-954.
190. Witt, C.; Borges, A. C.; John, M.; Fietze, I.; Baumann, G.; Krause, A.: Pulmonary involvement in diffuse cutaneous systemic sclerosis: bronchoalveolar fluid granulocytosis predicts progression of fibrosing alveolitis. *Ann. Rheum. Dis.* 1999., 58.: 635-640.
191. White, B.: Evaluation and management of pulmonary fibrosis in scleroderma. *Curr. Rheumatol. Rep.* 2002., 4.: 108-112.
192. Catoggio, L. J.; Bernstein, R. M.; Black, C. M.; Hughes, G. R.; Maddison, P. J.: Serological markers in progressive systemic sclerosis: clinical correlations. *Ann. Rheum. Dis.* 1983., 42.: 23-27.
193. Harvey, G. R.; Butts, S.; Rands, A. L.; Patel, Y.; McHugh, N. J.: Clinical and serological associations with anti-RNA polymerase antibodies in systemic sclerosis. *Clin. Exp. Immunol.* 1999., 117.: 395-402.
194. Moosig, F.; Csernok, E.; Kumánovics, G.; Gross, W. L.: Opsonization of apoptotic neutrophils by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) leads to enhanced uptake by macrophages and increased release of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha). *Clin. Exp. Immunol.* 2000., 122.: 499-503.
195. Berman, B.; Wietzerbin, J.: Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), interferon-alpha (IFN- alpha) and interferon-gamma (IFN-gamma) receptors on human normal and scleroderma dermal fibroblasts in vitro. *J. Dermatol. Sci.* 1992., 3.: 82-90.
196. Feghali, C. A.; Bost, K. L.; Boulware, D. W.; Levy, L. S.: Control of IL-6 expression and response in fibroblasts from patients with systemic sclerosis. *Autoimmunity.* 1994., 17.: 309-318.
197. Frank, K. H.; Fussel, M.; Conrad, K.; Rihs, H. P.; Koch, R.; Gebhardt, B.; Mehlhorn, J.: Different distribution of HLA class II and tumor necrosis factor alleles (TNF-308.2, TNFa2 microsatellite) in anti-topoisomerase I responders among scleroderma patients with and without exposure to quartz/metal dust. *Arthritis Rheum.* 1998., 41.: 1306-1311.

198. Hasegawa, M.; Sato, S.; Ihn, H.; Takehara, K.: Enhanced production of interleukin-6 (IL-6), oncostatin M and soluble IL-6 receptor by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic sclerosis. *Rheumatology*. (Oxford). 1999., 38.: 612-617.
199. Hasegawa, M.; Sato, S.; Fujimoto, M.; Ihn, H.; Kikuchi, K.; Takehara, K.: Serum levels of interleukin 6 (IL-6), oncostatin M, soluble IL-6 receptor, and soluble gp130 in patients with systemic sclerosis. *J. Rheumatol.* 1998., 25.: 308-313.
200. Heilig, B.; Fiehn, C.; Brockhaus, M.; Gallati, H.; Pezzutto, A.; Hunstein, W.: Evaluation of soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors and TNF receptor antibodies in patients with systemic lupus erythematoses, progressive systemic sclerosis, and mixed connective tissue disease. *J. Clin. Immunol.* 1993., 13.: 321-328.
201. Kawaguchi, Y.; Hara, M.; Wright, T. M.: Endogenous IL-1alpha from systemic sclerosis fibroblasts induces IL-6 and PDGF-A. *J. Clin. Invest.* 1999., 103.: 1253-1260.
202. Pandey, J. P.; Takeuchi, F.: TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms in systemic sclerosis. *Hum. Immunol.* 1999., 60.: 1128-1130.
203. Takeuchi, F.; Nabeta, H.; Fussel, M.; Conrad, K.; Frank, K. H.: Association of the TNFa13 microsatellite with systemic sclerosis in Japanese patients. *Ann. Rheum. Dis.* 2000., 59.: 293-296.
204. Young, V.; Ho, M.; Vosper, H.; Belch, J. J.; Palmer, C. N.: Elevated expression of the genes encoding TNF-alpha and thromboxane synthase in leucocytes from patients with systemic sclerosis. *Rheumatology*. (Oxford) 2002., 41.: 869-875.
205. Bolster, M. B.; Ludwicka, A.; Sutherland, S. E.; Strange, C.; Silver, R. M.: Cytokine concentrations in bronchoalveolar lavage fluid of patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1997., 40.: 743-751.
206. Gudbjornsson, B.; Hallgren, R.; Nettelbladt, O.; Gustafsson, R.; Mattsson, A.; af Geijerstam, E.; Totterman, T. H.: Phenotypic and functional activation of alveolar macrophages, T lymphocytes and NK cells in patients with systemic sclerosis and primary Sjogren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 1994., 53.: 574-579.
207. Romagnani, S.: Th1/Th2 cells. *Inflamm. Bowel. Dis.* 1999., 5.: 285-294.

208. Singh, V. K.; Mehrotra, S.; Agarwal, S. S.: The paradigm of Th1 and Th2 cytokines: its relevance to autoimmunity and allergy. *Immunol. Res.* 1999., 20. : 147-161.
209. Comabella, M.; Balashov, K.; Issazadeh, S.; Smith, D.; Weiner, H. L.; Khoury, S. J.: Elevated interleukin-12 in progressive multiple sclerosis correlates with disease activity and is normalized by pulse cyclophosphamide therapy. *J. Clin. Invest* 8-15-1998., 102. : 671-678.

12. Témával kapcsolatos saját közlemények és beszámolók jegyzéke

Írásos közlemények:

Angol nyelvű:

1. Berki T., Kumánovics G., Kumánovics A., Falus A., Újhelyi E., Németh P.: Production and flow cytometric application of a monoclonal anti-glucocorticoid receptor antibody. J. of Immun. Methods 1998., 214.:19-27.
2. Czirják L., Koncz A., Varga I., Dévényi K., Kumánovics G., Szűcs G.: Investigation of the alveolar macrophages and T lymphocytes in 15 patients with systemic sclerosis. Clin. Rheumatol. 1999., 18.: 357-363.
3. Moosig F., Csernok E., Kumánovics G., Gross W.L.: Opsonisation of apoptotic neutrophils by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) leads to enhanced uptake by macrophages and increased release of tumour necrosis factor-alpha (TNF-a). Clin. Exp. Immunol. 2000., 122.: 499-503.
4. Komócsi A., Kumánovics G., Zibotics H., Czirják L.: Alveolitis may persist during the immunosuppressive treatment sufficiently controlling the inflammatory muscle disease in patients with myositis. Rheumatol. Int. 2001., 20.: 113-118.
5. Kumánovics G., Zibotics H., Juhász E., Komócsi A., Czirják L.: Subclinical pulmonary involvement assessed by bronchoalveolar lavage in patients with undifferentiated connective tissue disease. Clin. Exp. Rheumatol. 2001., 19.: 551-559.
6. Czirják L., Kumánovics G.: Exposure to solvents in female patients with scleroderma. Clin. Rheumatol. 2002., 21.: 114-8.
7. [Lamprecht P.](#), [Kumánovics G.](#), [Mueller A.](#), [Csernok E.](#), [Komócsi A.](#), [Trabandt A.](#), [Gross WL.](#), [Schnabel A.](#): Elevated monocytic IL-12 and TNF-alpha production in Wegener's

granulomatosis is normalized by cyclophosphamide and corticosteroid therapy. Clin. Exp. Immunol. 2002., 128.: 181-6.

8. Kumánovics G., Magyarlaki T., Komócsi A., Szekeres Gy., Czirják L.: Simultaneous presence of neutrophil alveolitis and Ki-67 positivity of alveolar macrophages in dermato/polymyositis and systemic sclerosis. Rheumatol. Int. 2003., 23., 6-10.

Magyar nyelvű:

1. Czirják L., Zibotics H., Pfund Z., Gáti I., Varjú C., Komócsi A., Kumánovics G.: Klinikai manifesztációk vizsgálata gyulladásos myopathiákban. Magyar Reumatológia 2000., 41.: 211-5.
2. Komócsi A., Kumánovics G., Czirják L.: A Wegener granulomatózis. Allergológia és Klinikai Immunológia 2001., 4.: 1-7.
3. Komócsi A., Kumánovics G., Czirják L.: A Wegener granulomatózisról 11 beteg kapcsán. Magyar Reumatológia 2001., 42.: 79-84.
4. Kumánovics G., Zibotics H., Komócsi A., Czirják L.: Pulmonális fibrózis pathomechanizmusa szisztémás autoimmun kórképekben. Allergológia és Klinikai Immunológia 2001., 4.: 67-73.
5. Kumánovics G., Zibotics H., Komócsi A., Czirják L.: Pulmonális fibrózis, alveolitis szisztémás autoimmun kórképekben. Allergológia és Klinikai Immunológia 2001., 4.: 98-106.
6. Czirják L., Kumánovics G., Zibotics H., Nagy Z.: Nem differenciált collagenosissos betegek klinikai jellemzői. (Közlésre elküldve.)

Poszterek, előadások:**Publikált absztrakt:**

1. Kumánovics G., Thompson J.G.: Simultaneous intracellular detection of INF gamma and IL-4 using four colour flow cytometry for the determination of Th1/Th2/Th0 and Tc1/Tc2/Tc0 type cells in whole blood. Eight Canadian Flow Cytometry Consensus Meeting, 1997. november 16-18., Aylmer, Quebec, Kanada. Cytometry 1998., 34. (absztrakt)
2. Czirják L., Kumánovics G., Zibotics H., Juhász E., Zoltán I., Tóvári E.: Investigation of the lung function in patients with early connective tissue disease. International Conference on Systemic Sclerosis, Montecatini Terme, Olaszország, 1998. március 22-26., Clin. Exp. Rheumatology 1998.,16.: 378. (absztrakt)
3. Csernok E., Moosig F., Kumánovics G., Gross W.L.: Increased production of TNF-alpha and thromboxane-A2 by macrophages wich have ingested ANCA-opsonized apoptotic neutrophils. Inetrnational Conference of autoantibodies and autoimmunity, Oslo, Norvégia, 1999. június 24-28., Scan. J. of Immunology 1999. (absztrakt)
4. Kumánovics G., Müller A., Csernok E., Gross W.L.: Normalisierung der erhöhten Zahl von IL-12+ und TNF-alpha+ Monozyten im Blut unter Therapie mit Cyclophosphamid bei der Wegenerschen Granulomatose. Regionaltagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, Rostock-Warnemünde, Németország, 1999. szeptember 16-19., Z. Rheumatol. 1999., 58: 48. (absztrakt)
5. Nagy Z., Kumánovics G., Komócsi A., Tóvári E., Czirják L.: A capillarmicroscopia jelentősége a systemás autoimmun kórképek és a Raynaud syndroma diagnosztikájában. MAKIT XXVI. Kongresszusa Harkány 1998. május 13-15. Táplálkozás Allergia Diéta 3. évf 2.sz. 41. (absztrakt)

6. Müller A., Kumánovics G., Csernok E., Trabandt A., Gross W.L.: Cyclophosphamide normalizes an exaggerated ex vivo IL-12 and TNF-alpha production and inhibits in vitro translocation of NfκB p65 in Wegener's granulomatosis. Deutsche Gesellschaft für Immunologie Jahrestagung 1999, Hannover, Németország, 1999. február 09-10., 1999. Immunobiology 1999., 200.: 673-674. (absztrakt)
7. Moosig F., Csernok E. , Kumánovics G., Gross W.L.: Opsonisation of apoptotic neutrophils by ANCA leads to release of proinflammatory mediators after ingestion by macrophages Rheumaklinik Bad Bramstedt, University of Lübeck, Germany. Deutsche Gesellschaft für Immunologie Jahrestagung 1999., Hannover, Németország, 1999. február 09-10., Immunobiology 1999., 200.: 672. (absztrakt)
8. Nagy Z., Tóvári E., Komócsi A., Kumánovics G., Czirják L.: Systemás vasculitisek jellemzői néhány esetünk kapcsán. Pécsi Orvostudományi Egyetem, II.sz. Belgyógyászati Klinika és Nefrológiai Centrum. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLVI. Vándorgyűlése, Zalaegerszeg, 1999. június 17-19. Magyar Belorvosi Archivum Supplementum 1/1999., 52.: 24. (absztrakt)
9. Tóvári E., Schlamadinger J., Kumánovics G., Czirják L.: HEp-2 sejteken végzett antinukleáris faktor vizsgálatok systemás autoimmun betegségekben. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLVI. Vándorgyűlése, Zalaegerszeg. 1999. június 17-19. Magyar Belorvosi Archivum Supplementum 1/1999, 52: 43. (absztrakt)
10. Kumánovics G., Czirják L.: Szerves oldószer expositio szerepe systemás autoimmun kórképekben. MRE 2001. Évi Vándorgyűlése, Pécs, 2001. október 18-21. Magyar Reumatológia 2001., 42.: 153. (absztrakt)

További poszterek, előadások:

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

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

8. Nagy Z., Tóvári E., Komócsi A., Kumánovics G., Czirják L.: Klinikai immunológiai vizsgálatok nem differenciált kollagenózisban. Magyar Rheumatológiai Egyesület 1999. évi Vándorgyűlése, Debrecen. 1999. október 13-17.
9. Kumánovics G., Komócsi A. Czirják L.: Alveolitis vizsgálata nem differenciált collagenosisban és systemás sclerosisban. Magyar Immunológiai Társaság 1999. évi Kongresszusa, Bük. 1999. október 27-29.