

**Petrányi Gyula**  
**Klinikai Immunológiai és Allergológiai**  
**Doktori Iskola**



**2016. évi PhD konferencia**

**MEGHÍVÓ**

A

Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai  
Doktori Iskola

2016.12.16-én (pénteken) 13:00 órától  
tartja 2016. évi PhD konferenciáját,  
amelyre tisztelettel meghívjuk.

Konferencia helyszíne:

DE ÁOK, Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék  
Könyvtára

Prof. Dr. Zeher Margit

DI Vezető

Lajszné Dr. Tóth Beáta

DI Titkár

## Program

- 13:00 MEGNYITÓ, Prof. Dr. Zeher Margit
- 13:10 – 15:00 TUDOMÁNYOS ÜLÉS  
Üléseelnök: Prof. Dr. Zeher Margit
- 13:10-13:20 Chen Ji-Qing – doktorjelölt  
Témavezető: Prof. Dr. Zeher Margit  
MicroRNA expression profiles in systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome.
- 13:20-13:30 Ahmad Khasawneh – 3. éves  
Témavezető: Dr. Kapitány Anikó  
Peripheral blood dendritic cells in psoriasis are able to produce Th1 polarising cytokines.
- 13:30-13:40 Hajdu Krisztina – 2. éves  
Témavezető: Prof. Dr. Szegedi Andrea  
Atópiás dermatitis fenotípusok vizsgálata betegregiszter segítségével.
- 13:40-13:50 Pogácsás Lilla – 2. éves  
Témavezető: Prof. Dr. Szegedi Andrea  
Biológiai terápia terápiahűsége és a perzisztenciára ható tényezők elemzése psoriasisban.
- 13:50-14:00 SZÜNET  
  
Üléseelnök: Prof. Dr. Szegedi Andrea
- 14:00-14:10 Jenei Adrienn – 2. éves  
Témavezető: Dr. Kapitány Anikó  
Apokrin mirigyekben gazdag egészséges bőr régió immunstátuszának vizsgálata.
- 14:10-14:20 Medgyesi Barbara – 1. éves  
Témavezető: Prof. Dr. Szegedi Andrea  
Epimmunom mintázat feltárása topográfiaileg eltérő egészséges bőrterületeken.
- 14:20-14:30 Jámbor Ilona – 1. éves  
Témavezető: Prof. Dr. Zeher Margit  
A folliculáris T-helper sejtek alcsoportjainak szerepe az autoimmun betegségek patogenezisében.

- 14:30-14:40 Dénes Noémi – 1. éves  
Témavezető: Prof. Dr. Hunyadi János  
Peptid-származékok nyomjelzése PET képalkotás céljából.
- 14:40-14:50 Farkasinszky Gergely – 1. éves  
Témavezető: Prof. Dr. Hunyadi János  
Iszkémia reperfúzió mediált receptor expresszió in vivo tanulmányozása különböző experimentális állatmodelleken PET radiotrészerek alkalmazásával.
- 14:50-15:00 Nagy Gábor – doktorjelölt  
Témavezető: Dr. Antal-Szalmás Péter  
Antinukleáris és anti-neutrofil citoplazmatikus antitestek kimutatása az EuroPattern automatizált fluoreszcens mikroszkóp és mintázatfelismerő szoftver segítségével
- 15:00-15:10 KONFERENCIA ZÁRÁSA

## **ABSZTRAKTOK**

## **MicroRNA expression profiles in primary Sjögren's syndrome**

**Chen Ji-Qing**

Division of Clinical Immunology, Faculty of Medicine, University of Debrecen

**Background:** MicroRNAs (miRNAs) are single-stranded, endogenous non-coding small RNAs, ranging from 18 to 25 nucleotides in length. MiRNAs are essential in regulating gene expression, cell development, differentiation and function. Dysregulation in miRNAs expression may contribute to the development of immunological disturbances and autoimmunity. The aim of our study was to examine the changes in miRNA expression profiles in patients with primary Sjögren's syndrome (pSS).

**Methods:** Eight pSS patients and 8 healthy control subjects were enrolled in the investigation. MiRNAs were isolated from peripheral blood mononuclear cells, and the expression patterns were determined with Illumina next-generation sequencing technology. We also assessed associations between ratios of certain lymphocyte subsets and expression levels of miRNAs.

**Results:** MiRNA expression profiles differed significantly between pSS patients and healthy controls. 21 miRNAs showed altered expression in pSS patients compared to control values. We also revealed that the expression of miR-150, which plays role in the inhibition of B-cell activation and differentiation, was decreased in pSS patients.

**Conclusions:** The observed differences in miRNA expression profiles and the better understanding of the immune regulatory mechanisms of the relevant miRNAs may help to elucidate the pathogenesis of pSS. Certain miRNAs, as potential biomarkers, may not only help in the early diagnosis and prediction of prognosis, but also could assist in identifying potential targets for therapeutic interventions in the future.

## **Peripheral blood dendritic cells in psoriasis are able to produce Th1 polarising cytokines**

**Ahmad Khasawneh**

Division of Dermatological Allergology, Department of Dermatology, Faculty of Medicine, University of Debrecen

Psoriasis is a common inflammatory skin disease, where dendritic cells (DC) play crucial roles in the development of skin inflammation. Although the characteristics of skin DCs in psoriasis are well defined, less is known about their peripheral blood precursors. Therefore our aim was to characterize the cytokine and chemokine production of DC populations separated from the blood of patients with psoriasis. Myeloid DCs (mDCs) were separated from the blood of psoriasis patients and healthy controls using magnetic separation kit, than their intracytoplasmic cytokine production and the expression of activation/maturation markers were investigated with flow cytometry applying 8-colour staining. We could simultaneously detect the production of both Th1 (IL-12), Th2 (IL-2, CCL17), Th17 (TGF $\beta$ , IL-23, IL-6), Th22 (IL-6 and TNF $\alpha$ ), and Treg (TGF $\beta$  and IL-10) polarizing cytokines. According to our results psoriatic mDCs are able to produce IL-12 (as Th1 polarizing cytokine) in a significantly higher amount compared to control cells. When examining the chemokine production of the DCs we have found that psoriatic mDCs released CXCL8, CXCL10 and CCL20 chemokines in a higher level than the control cells, but the difference was significant in the case of CCL20. Our results indicate that beside skin DCs, circulating pre-DCs deriving from psoriatic patients are also able to produce psoriasis specific cytokines and they are characterized by a Th1 polarizing capacity.

## **Atópiás dermatitis fenotípusok vizsgálata betegregiszter segítségével**

**Hajdu Krisztina**

DE ÁOK Bőrgyógyászati Klinika, Bőrgyógyászati Allergológiai Nem Önálló Tanszék

**Bevezetés:** Az atópiás dermatitis (AD) a leggyakoribb gyulladásos bőrbetegség. Prevalenciája gyermekek körében kb. 20%, míg a felnőtt lakosságban 3% körüli. A betegség pathogenesis nem teljesen tisztázott, genetikai faktorok, környezeti ártalmak és immunológiai eltérések együttesen vezetnek az AD kialakulásához. Egyrészt a bőr barrier funkciójának károsodása, másrészt Th2, Th22 mediált gyulladásos folyamatok szerepe ismert a betegség pathogenesisében. A szakirodalomban egyre inkább úgy gondolják, hogy az AD nem egy egységes betegcsoport, hanem több alcsoportot foglal magába. Megkülönböztetnek ún. early-onset, valamint late-onset AD-t. Előbbi csecsemőkorban, kisgyermekkorban alakul ki, majd vagy tünetmentessé válik serdülőkorban és nem tér vissza a betegség, vagy felnőtt korában is tünetes marad. Utóbbi csak felnőttkorban manifesztálódik. Ezenkívül elkülönítenek extrinsic és intrinsic AD csoportokat is, előbbiben emelkedett IgE szinteket mérnek és allergiás szenzitizáció kimutatható, míg utóbbiban az IgE szint normál tartományban van és negatívak a bőrtesztek.

**Célkitűzés:** Az AD alcsoportjainak definiálása, klinikai, immunológiai jellemzőinek meghatározása saját beteganyagunkon.

**Módszerek:** Klinikánk 203 fős AD regiszterének feldolgozásával az early- és late-onset AD alcsoportokat fogjuk vizsgálni. Laboratóriumi (total-IgE, spec-IgE, vérkép) vizsgálatokat, bőrteszteket (Prick-, Atopy Patch-teszt) végeztünk, valamint biopsziát vettünk a betegek lézionális és non-lézionális bőréből. Minden betegről részletes anamnézis felvétel történt (kórtörténet, családi anamnézis, atópiás betegségek, egyéb tárult betegségek). Az így nyert adatokat statisztikai módszerekkel fogjuk feldolgozni és vizsgálni fogjuk, hogy van-e eltérés a betegcsoportok között.

**Diszkusszió:** A fenti vizsgálatok folyamatban vannak, eredményekről jelenleg még nem tudunk beszámolni. Az alcsoportok pontos definiálásával véleményünk szerint az AD hatékonyabb, alcsoport specifikusabb terápiás lehetőségeit tudjuk majd azonosítani.



## **Biológiai terápiák terápiahűsége és a perzisztenciára ható tényezők elemzése psoriasisban**

**Pogácsás Lilla**

DE ÁOK Bőrgyógyászati Klinika, Bőrgyógyászati Allergológiai Nem Önálló Tanszék

**Háttér:** A perzisztencia átfogóan jellemzi egy terápia sikerességét, mely a hatásosság és biztonságosság mellett számos tényezőtől függ. A klinikai vizsgálatokban optimális körülmények között mért perzisztencia azonban nem minden esetben egyezik meg a valós terápiás gyakorlat során megfigyelt terápiahűséggel.

**Cél:** A vizsgálat célja a tumor nekrozis faktor-alfa (TNF-alfa) gátló készítményekkel valamint interleukin inhibitorokkal kezelt plakkos psoriasisban szenvedő betegek terápián maradásának összehasonlítása, valamint a terápihűséget befolyásoló tényezők vizsgálata volt.

**Módszertan:** Összesen 1 263 beteg adatait elemeztük. A tanulmány során a betegekre és a terápiákra vonatkozó adatok az Országos Egészségbiztosítási Pénztár (OEP) adatbázisából kerültek felhasználásra, míg a betegek indításakor mért PASI és DLQI értékeket a kutatásban részt vevő centrumok szolgáltatták. Befolyásoló tényezőként vizsgáltuk, hogy a kor, a nem, a biológiai terápia naivitás, a párhuzamos metotrexát kezelés miként befolyásolja az perzisztenciát. A terápián maradás vizsgálatára Kaplan-Meier túlélés elemzést, a terápiahűséget befolyásoló tényezők vizsgálatára Cox féle arányos hazard modellezés került alkalmazásra.

**Eredmények:** A négy biológiai terápia átlagos perzisztenciája három év után is meghaladta a 60%-ot. Az ustekinumabbal kezelt betegek terápián maradása 3 év elteltével 68%. Ez a perzisztencia arány szignifikánsan jobb a TNF-alfa gátlókhöz viszonyítva, melyek átlagos perzisztenciája 36 hónap elteltével 50,76%. ( $p < 0,05$ ). A férfi betegek szignifikánsan jobb perzisztenciával rendelkeztek, mint a nők ( $p < 0,01$  CI:0,63-0,92). Elemzésünk alapján a terápia naivitása, a kor, vagy a biológiai terápia melletti párhuzamos methotrexát kezelés szintén befolyásolja a perzisztenciát, ez a hatás azonban nem volt szignifikáns.

**Konklúzió:** A biológiai terápiákkal kezelt psoriasisos betegek perzisztenciája összességében kiválónak tekinthető. Az ustekinumabbal kezelt betegek terápiahűsége szignifikánsan jobb volt a TNF-alfa gátló készítményekkel összehasonlítva.

## **Apokrin mirigyekben gazdag egészséges bőr régió immunstátuszának vizsgálata**

**Jenei Adrienn**

DE ÁOK Bőrgyógyászati Klinika, Bőrgyógyászati Allergológiai Nem Önálló Tanszék

**Bevezetés:** A bőr mikrobiom összetétele a kor előrehaladtával, valamint a környezeti hatások változásával jelentős különbségeket mutathat. Korábbi vizsgálatok megállapították, hogy a bőrfelszínen található mikroorganizmusok szoros összefüggésben vannak a bőr homeosztázisával, valamint a helyi immunaktivitás mértékével. Kimutatták azt is, hogy a mikrobiom összetételében bekövetkező változások a bőrben szignifikáns interleukin (IL)-17-et termelő T sejt jelenlétet eredményeznek, melyek gyulladásos folyamatok beindításában nem vesznek részt. Serdülő korban, zsíros bőrben ezeknek a Th17/Treg sejteknek a jelenléte a mikrobiom összetételének megváltozását eredményezik. Mivel ez a mikrobiom változás apokrin mirigyekben gazdag bőrben megfigyelhető, ezért megvizsgáltuk az egészséges nedves bőrre jellemző immunstátuszt is.

**Módszer:** Vizsgálatainkhoz nedves bőrterületről (axilláris terület) biopsziákat gyűjtöttünk. A minták egy részét parafinba ágyazva immunhisztokémiai vizsgálatokhoz használtuk fel: TSLP, CD4, CD11c, CD83, CCL17 (TARC), IL-10, IL-13, IL-17 és IFN- $\gamma$  antitesteket használva. A mintákat digitalizálás után Panoramic Viewer software segítségével hasonlítottuk össze. A minták másik részéből mRNS-t izoláltunk. A fent említett faktorok mellett a T-bet, GATA3, RORC és FOXP3 transzkripciós faktorok génexpressziós szintjét qPCR analízissel határoztuk meg.

**Eredmények:** Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a TSLP és a dendritikus sejtek (DC) mennyisége jelentősen nagyobb nedves bőrben, mint száraz bőrben. Megfigyeltük nedves bőrben a T sejtszám emelkedését is, IL-17/IL-10 citokin millió mellett. A fenti citokinek génexpressziós vizsgálata hasonló eredményt mutatott.

**Összefoglalás:** Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy pubertás korban az apokrin mirigyek érése nemcsak a kémiai- és mikrobiom-összetétel változását okozzák, hanem a bőr immunstátuszában is jelentős eltérések alakulnak ki száraz bőrhöz hasonlítva.

## **Epimmunom mintázat feltárása topográfiaailag eltérő egészséges bőrterületeken**

**Medgyesi Barbara**

DE ÁOK Bőrgyógyászati Tanszék, Bőrgyógyászati Allergológiai Nem Önálló Tanszék

Az epimmunomok olyan molekulák, melyeket epithelsejtek, a bőrben elsősorban keratinociták (KC) termelnek és képesek alapvetően befolyásolni a barrier immunológiai működését. Az elmúlt évek bőrgyógyászati immunológia kutatásainak nagy felfedezése, hogy a bőr mikrobiomjának összetétele nem egységes mivel jelentős eltérések vannak a száraz (faggyúmirigyben szegény), zsíros (faggyúmirigyben gazdag) és nedves (hajlati, apokrin mirigyekben gazdag) bőrterületek között. Feltevésünk szerint az eltérő mikrobióta változó immunaktivitást, változó epimmun termelést eredményezhet.

Célunk az egészséges bőr topográfiaailag eltérő területeire jellemző epimmunom mintázat feltárása, vagyis a bőr mikrobiom térképéhez hasonlóan egy epimmunom térkép megrajzolása. Zsíros, száraz és nedves egészséges bőr biopsziás mintákon vizsgálánk a főbb epimmunom molekulák jelenlétét (TSLP, IL-25, IL-33, TGF- $\beta$ 1, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , S100, I-es típusú IFN). Az epimmunom molekulák génszintű eltérését a különböző bőrterületeken qRT-PCR módszerrel vizsgáljuk. A gén- és fehérje-expressziós mintázatok a posztranszkripció és posztranszlációs módosítások miatt eltérhetnek egymástól, ezért ezen molekulák fehérjeszintű kifejeződését immunhisztokémiai festésekkel is tanulmányozzuk, amely segítségével a molekulák lokalizációját illetően is fontos információhoz juthatunk. Amennyiben a fenti kísérletek alapján látható lesz, hogy mely epimmunom molekulák karakterisztikusak a száraz, zsíros és nedves bőrterületekre, azt is megvizsgáljuk, hogy melyek azok a faktorok, amelyek felelősek az adott epimmunomkészlet expressziójáért.

A fenti eltéréseket vizsgálva remélhetően immunológiai magyarázatot tudnánk adni arra a jól ismert tényre, hogy bizonyos immun-mediált gyulladásoz bőrbetegségek miért lokalizálódnak mindig egy-egy meghatározott bőrterületre, például a rosacea a zsíros arcbőrre, az atópiás dermatitis a száraz területekre és a hidradenitis suppurativa a nedves bőrre.

# **A folliculáris T-helper sejtek alcsoportjainak szerepe az autoimmun betegségek patogenezisében**

**Jámbor Ilona**

DE ÁOK Klinikai Immunológiai Tanszék

**Előzmény:** A folliculáris T helper ( $T_{FH}$ ) sejtek olyan  $CD4^+$  T-helper alcsoportot képeznek, melyek elsődleges feladata a germinális centrumhoz kötött válaszok kifejlődésének elősegítése azáltal, hogy támogatják a B sejtek túlélését, proliferációját és differenciációját memória B sejtekké, illetve hosszú-életű plazmasejtekké. A  $T_{FH}$  limfocitákat sejtfelszíni molekulák expressziója és az általuk termelt citokinek alapján további alcsoportokba sorolják;  $T_{FH1}$ ,  $T_{FH2}$ ,  $T_{FH17}$ , továbbá aktivált és nyugvó állapot. Célunk a perifériás  $T_{FH}$  sejtek alcsoportjainak fenotípusos, későbbiekben funkcionális vizsgálata, valamint a naív B sejtek, regulatív B sejtek, memória B sejt altípusok és a plazmasejtek százalékos arányának meghatározása áramlási citométer segítségével.

**Módszerek:** Eddigi vizsgálatainkba 9 beteg és 6 egészséges kontroll személyt vontunk be. A sejtpopulációkat perifériás vér mononukleáris sejtjeiből (PBMC) mágneses izolációval nyertük. A  $CD4^+$  T sejteket Miltenyi „ $CD4$  T sejt izoláló kit”, a B sejteket „B sejt izoláló kit” segítségével szeparáltuk a vér további sejtalkotóitól. A  $CD4^+$  T sejteket a CXCR5 kemokin receptor expresszió alapján tovább szeparáltuk. Az izolált sejtcsoportokból T/B kokultúrákat hoztunk létre, a sejt kultúra felülúszójából vizsgáltuk a szekretált IgG, IgM és IgA szintjét ELISA módszerrel, valamint áramlási citométeren vizsgáltuk a sejtek fenotípusát.

**Eredmények:** Jelen eredményeink szerint a  $T_{FH1}$ ,  $T_{FH17}$  alcsoportok százalékos aránya emelkedett pSS-ben, különös tekintettel az extraglanduláris manifesztációt mutató betegeknél, illetve az IL-21 termelő  $T_{FH}$  sejtek aránya is emelkedett ebben a betegcsoportban. A  $T_{FH1}$ ,  $T_{FH17}$  alcsoportok százalékos aránya szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az aktivált állapotú  $T_{FH}$  alcsoport arányával. Az IL-21 termelő  $T_{FH}$  sejtek esetében is hasonló tendenciát tapasztaltunk. A betegek rutin laboratóriumi paramétereinek áttekintésekor a szérumban mért immunkomplexek szintjével találtunk pozitív korrelációt a  $T_{FH1}$ ,  $T_{FH1}/T_{FH17}$  és IL-21  $T_{FH}$  termelő sejtek esetében.

**Következtetések:** A tervezett kísérleteink számos új adatot szolgáltathatnak a perifériás vérben keringő  $T_{FH}$  és B sejtek arányának patológiás megoszlásával és funkcióival

kapcsolatban, melyek jobb megértése hozzájárulhat újabb terápiás stratégiák kidolgozásához a vizsgált autoimmun kórképekben.

## **Peptid-származékok nyomjelzése PET képalkotás céljából**

**Dénes Noémi**

DE ÁOK Orvosi Képző Klinika Nukleáris Medicina

A molekuláris képalkotó technikák – mint pl. a PET- fejlődése az elmúlt két évtizedben lehetővé tette azok egyre szélesebb körű alkalmazását mind a rutin klinikai gyakorlatban, mind kutatási célú projektekben. A gyógyszergyárak is egyre inkább felismerik annak jelentőségét, hogy fejlesztéseik hatékonyságát minél hamarabb, preklinikai fázisban, élő rendszerben méresek meg. 2015-ben a peptid alapú gyógyszerek piaca becslések szerint 17,5 milliárd \$ volt, és 10 év múlva ez 47 milliárd \$-ra nőhet (Sabyasachi G. Chemistry Today, 2016). Ezért a peptidek minél hatékonyabb alkalmazásának a nukleáris medicina gyakorlatában komoly szerep juthat a közeljövőben. Különösen fontos lehet olyan módszerek kidolgozása, amelyek függetlenek pl. a nagy költségigényű ciklotronok közelségétől.

A  $^{68}\text{Ga}$  egy generátor izotóp 68 perces felezési idővel. Különös jelentősége abban rejlik, hogy hosszútávon megoldást jelenthet a biomolekulák jelölésére ciklotronnal nem rendelkező centrumok számára is. A generátor rugalmas izotópellátást biztosít, hiszen 4 óránként az elméleti maximális aktivitás 90%-át újratermeli, és az anyaelem -  $^{68}\text{Ge}$  – hosszú felezési idejének köszönhetően (271 nap) a generátor 1-2 évig is használható (Khan M.U.; Khan S. et al, European Journal of Surgical Oncology, 2009). Az utóbbi években sokat fejlődött a gallium-alkalmazásához szükséges koordinációs kémiai háttér is, a nagy stabilitású komplexek jól használhatóak az élő szervezetben. Az izotóp fizikai felezési ideje ideális a peptidek farmakokinetikájához, és a jelölt, szelektív peptidek általában gyors dúsulást mutatnak a célzott szövetekben, míg rövid idő alatt kiürülnek a véráramból.

Célkitűzésünk tehát olyan, sikeres receptor-szelektív radioligandumok elkészítése, amelyek jól hasznosíthatóak biológiai folyamatok monitorozására. Farmakokinetikai módosítók alkalmazásával, multimerizációval és régiószelektív jelöléssel olyan analógok kifejlesztésére törekszünk, amelyek megtartják magas receptor-affinitásukat és kontrasztos képet nyújtanak a minél pontosabb információk beszerzéséhez.

**Iszkémia reperfúzió mediált receptor expresszió *in vivo* tanulmányozása  
különböző experimentális állatmodelleken PET radiotrészek alkalmazásával.**

**Dr. Farkasinszky Gergely**

DE ÁOK Orvosi Képző Klinika Nukleáris Medicina

A pozitron emissziós tomográfia (PET) egy speciális, nem invazív, nukleáris medicinában alkalmazott képalkotó eljárás, mely segítségével lehetséges különböző élettani és patofiziológiai folyamatok *in vivo* tanulmányozása.

Habár a PET leginkább az onkológiában és a neurológiában alkalmazott képalkotó eljárás, a felhasználási lehetőségek más kórállapotok tanulmányozására jelenleg az érdeklődés központjában állnak a tudomány terület művelői között, a benne rejlő kiemelkedő tudományos és egészségügyi potenciál miatt.

Számos komoly betegség hátterében az angiogenezis diszregulációja áll. Az angiogenezishez kapcsolható állapotokban új erek képződése következik be, amelyek az adott szerv funkcióját közvetlen vagy közvetett módon negatívan befolyásolhatják.

Célunk olyan kísérleti állatmodellek megalkotása, melyek jelenleg nem nyertek még alkalmazást a human betegség modellekkel kapcsolatos képalkotásban, ezzel szélesítve a potenciális felhasználási lehetőségeket a tudományos szakirodalomból ismert radionukliddal jelölt molekulákkal kivitelezhető iszkémia reperfúzió mediált receptor expresszió diagnosztizálásában.

Ezzel nem csak a széles betegpopulációt érintő kórállapotokban, de a ritka betegségeknél is megnyílhat a hipotetikus út a "személyre szabott terápia" megvalósítására, mivel ezeknél a rendellenes állapotoknál a lehetséges gyógymódok kifejlesztése komoly akadályba ütközik a fejlesztési szakasz kezdetén a beteg beválogatás kapcsán. Továbbá azt is megállapíthatjuk; a konzervatív gyógyszerfejlesztési stratégiák gyakran nem hatékonyak a ritka betegségek estén, melynek oka nem csak a szűk piaci szegmens, hanem a limitált bevonható betegpopuláció.

Hosszú távú célunk a fentebb felvázolt alkalmazások hatékonyságának és alkalmazhatóságának bizonyítása humán klinikai vizsgálatokban, ezzel megteremtve a modern terápiák elérhetőségét szélesebb betegpopulációk számára.

# **Antinukleáris és anti-neutrofil citoplazmatikus antitestek kimutatása az EuroPattern automatizált fluoreszcens mikroszkóp és mintázatfelismerő szoftver segítségével**

**Nagy Gábor**

DE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézet

**Bevezetés:** Indirekt immunfluoreszcens teszt (IIFT) esetén a tárgylemezre fixált szövetmetszetben vagy sejtrétegben megtalálható összes antigén elleni antitest kimutatható, ezért ez a legelterjedtebb autoantitest szűrő módszer. Hátránya, hogy kivitelezése döntően manuális feladat, leolvasása speciális fluoreszcens mikroszkópiai jártasságot, sötétszobát igényel, időigényes és még maximális standardizálás mellett is szubjektív. Mivel az ANA szűrés az egyik leggyakoribb autoantitest vizsgálat számos cég kezdett az IIFT automatizált elvégzésére alkalmas műszerek fejlesztésébe. Az Euroimmun jól ismert, IIFT reagensek gyártásával foglalkozó cég, automatizált fluoreszcens mikroszkóp és mintázatfelismerő algoritmusát EuroPattern néven hozta forgalomba.

**Módszerek:** HEp-20-10 sejteken történő antinukleáris antitest kimutatáshoz 276, míg ANCA azonosításhoz 548 szérumból mintát használtunk, melyek a részlegünkre szekvenciálisan érkező, válogatatlan minták voltak. Az IIFT kivitelezése a gyártó leírása szerint manuálisan történt. A lemezeket ezután az EuroPattern automatizált mikroszkóp beolvasta, majd a képanalízis és mintázatfelismerő szoftver (EPA) segítségével kategorizálta (negatív, kétes, pozitív), illetve a mintázatokat azonosította. Referencia módszerként ugyanezeket a lemezeket hagyományos mikroszkópos módon is értékeltük.

**Eredmények:** Antinukleáris antitest kimutatás EuroPattern szoftverrel (EPA) HEp-20-10 sejteken. A vizsgált mintákon az automatizált mikroszkóp a 167 negatív eredményből 106-ot negatívnak adott meg (63,5%), a pozitívok 97,2%-át pozitívnak adta meg (106/109). A pozitív-negatív konkordancia így 76,8%-nak adódott. A szoftveres eredmények felhasználó általi korrigálása/validálása után a konkordanciák az alábbiak lettek: 88,6% (negatív), 100% (pozitív), 93,1% (pozitív-negatív). A szoftver által negatívnak minősített 109 mintából csak 3 volt hagyományos értékeléssel pozitív és azok közül is egy alacsony titerű nukleoláris mintázatú, míg 2 alacsony intenzitású midbody mintázatot mutatott. Ez alapján a rendszer nagy segítséget jelent a negatív minták azonosításában, ami azért is jelentős, mivel az antinukleáris antitest szűrés során a minták jelentős része negatív. A pozitív minták esetén a szoftver a mintázatot is megpróbálja



azonosítani. Az EPA 7 antinukleáris antitest mintázatot ismer. Az algoritmus az általa beazonosítható mintázatokat változó arányban ismerte fel helyesen: az osztódási orsó mintázatú minták közül egyet sem, míg a centromer típusúak mindegyikét azonosította. Anti-neutrofil citoplazmatikus antitest (ANCA) kimutatás EuroPattern szoftverrel. Az 548 ANCA tesztre érkező minta esetén a szoftveres és hagyományos értékelés közötti konkordancia értékek a következőképpen alakultak: pozitív-negatív: 82,6 % (380/460), negatív: 81,5 % (330/405), pozitív: 90,9 % (50/55). A szoftver által negatívnak minősített eredmény közül összesen 5 minta volt álnegatív. A felhasználó általi képernyő előtti jóváhagyás után a konkordancia értékek 96,0%, 95,6%, illetve 98,3%-ra növekedtek. ANCA esetén a pozitív eredményen túl a mintázat felismerő algoritmus P-ANCA, C-ANCA, atípusos ANCA mintázatokat képes azonosítani. A 7 P-ANCA pozitív minta mindegyikét, a C-ANCA és atípusos mintázatú szérumoknak is több, mint 50%-át helyesen kategorizálta a szoftver önállóan. A szoftver jelenlegi változata nem képes felismerni az antinukleáris antitest interferencia által okozott atípusos ANCA-hoz igen hasonló pozitivitást, emiatt a felhasználói beavatkozásra ilyen esetben van leginkább szükség.

**Összefoglalás:** Az EuroPattern automatizált fluoreszcens mikroszkóp és mintázatfelismerő szoftver szerepét és jelentőségét az alábbiakban látjuk: A negatív minták magas aránya esetén az automatizált mikroszkóp és a képelemző algoritmus segítenek objektíven kiszűrni a negatív eredményeket. A kiértékelő szakemberek a valódi figyelmet igénylő esetekre koncentrálhatnak. A mintázatfelismerő szoftver segítséget ad, de nem helyettesíti a humán kiértékelést. A képek digitalizálásával, tárolásával lehetővé válik a dokumentáció, archiválás, a beteg előző eredményével való vizuális összevetés. Számos járulékos előnyt biztosít: csökkenti a módszer szubjektivitását, szükségtelenné teszi a sötétszobát, a papír alapú munkalisták megszűnésével megszűnik az elírási/átírási hiba lehetősége, egyszerűsíti és gyorsítja a munkafolyamatot, lehetővé teszi a konzultációt, akár a távmunkát is.