

A cutan lymphocyta-asszociált antigén (CLA) prediktív szerepe psoriasis TNF- α gátló kezelése során

Doktori értekezés

Dr. Jókai Hajnalka

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Holló Péter, egyetemi docens, PhD

Hivatalos bírálók: Dr. Szegedi Andrea, egyetemi tanár, MTA doktora

Dr. Miheller Pál, egyetemi adjunktus, PhD

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Rácz Károly, egyetemi tanár, MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Szalai Zsuzsanna, osztályvezető főorvos, PhD

Dr. Jeney András, egyetemi tanár, MTA doktora

Budapest

2013

TARTALOMJEGYZÉK

1. Rövidítések jegyzéke.....	4
2. Bevezetés.....	7
2.1. A psoriasis epidemiológiája, klinikuma és genetikai háttere.....	9
2.2. A psoriasis immun-pathogenezisének rövid összefoglalása.....	10
2.3. A CLA szerepe fiziológias körülmények között.....	14
2.3.1. Az adaptív immunitás cselekvő és emlékező funkciója.....	14
2.3.2. A szövetspecifikus migráció szabályozása. A bőrspecifikus homing mechanizmus alapja.....	16
2.3.3. A CLA definíciója, expressziójának szabályozása.....	18
2.3.4. A T-lymphocyták extravasatiojának lépései a bőrben.....	21
2.4. A CLA pathogenetikai szerepe a bőr kóros folyamataiban.....	24
2.4.1. A CLA szerepe psoriasisban.....	24
2.4.2. A CLA szerepe egyéb bőrbetegségekben.....	28
2.5. A CLA expressziójának változása psoriasis egyéb szisztémás kezelési formáinak hatására.....	34
2.5.1 Fényterápia.....	34
2.5.2 Methotrexate.....	35
2.6. A célzott immunterápiás lehetőségek jelentősége psoriasisban.....	36
2.7. A Magyarországon forgalomban lévő biológiai terápiás vegyületek.....	38
2.7.1. A TNF- α gátlószerei.....	38

2.7.1.1. Etanercept.....	38
2.7.1.2. Infliximab.....	39
2.7.1.3. Adalimumab.....	39
2.7.2. Az IL-12/IL-23 útvonal közös gátlószerei.....	40
2.7.2.1. Ustekinumab.....	40
2.8. A célzott immunterápiák lehetséges mellékhatásai.....	41
2.9. Psoriasis TNF- α gátló kezelésének potenciális prediktív markerei.....	43
3. Célkitűzések.....	46
4. Módszerek.....	48
4.1. Beteganyag.....	48
4.2. A TNF- α gátló biológiai válaszmódosító kezelés alkalmazásának feltételei.....	49
4.3. A TNF- α inhibitorok protokoll szerinti dozírozása.....	51
4.4. A klinikai válaszkészség monitorozása.....	51
4.5. Az áramlási citometriai mérések, a CLA expresszió meghatározása.....	52
4.5.1. Az áramlási citometriai mérés előkészületei, az immunfluoreszcens festés menetének összefoglalása.....	54
4.6. Statisztikai analízis.....	55
5. Eredmények.....	56
5.1. A klinikai válaszkészség alakulása.....	56
5.2. Az áramlási citometriával detektált CLA expresszió alakulása.....	59
5.3. A Pearson-féle korreláció analízis eredménye.....	72
6. Megbeszélés.....	73

6.1. A TNF- α és a CLA pathogenetikai kapcsolata.....	73
6.2. A CLA expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban.....	74
6.3. A CLA expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban.....	77
6.4. A Pearson-féle korreláció analízis eredménye.....	83
6.5. Az egészséges kontrollok és a psoriasisos betegcsoport CLA expressziójának összehasonlítása.....	84
7. Következtetések.....	85
8. Összefoglalás.....	87
9. Summary.....	88
10. Irodalomjegyzék.....	89
11. Saját publikációk jegyzéke.....	109
11.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények.....	109
11.2. A disszertációtól független közlemények.....	109
12. Köszönetnyilvánítás.....	110

1. Rövidítések jegyzéke

BASFI Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index

BSA Body Surface Area

CLA cutan lymphocita-asszociált antigén

DC dendritikus sejt

DLQI Dermatology Life Quality Index

EMA European Medicine Agency

FITC fluoreszcein isothiociánát

FSC forward scatter

FUT7 α 1,3-fukoziltranszferáz VII

HIF hypoxia-inducible factors

ICAM-1 intercellular cell adhesion molecule 1

IMID immune-mediated inflammatory diseases, immunmediálta gyulladásos kórképek

iNOS indukálható nitrogén-monoxid szintáz

JAK-STAT Janus kinase – signal transducers and activators of transcription

LFA-1 lymphocyte function-associated antigen 1

MADCAM1 mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1

mDC myeloid dendritikus sejt

MF mycosis fungoides

MHC Major Histocompatibility Complex

NF- κ B nuclear factor- κ B

PASI psoriasis area and severity index

PBS Phosphate Buffered Saline

pDC plasmocytoid dendritikus sejt

PDE4 phosphodiészteráz enzim 4

PSGL-1 P-selectin glycoprotein ligand 1

PSORS psoriasis susceptibility loci

RPE phycoerythrin

RPE-CY5 phycoerythrin-cyanin 5

RSV respiratory syncytial vírus

SIS skin immune system

SS Sézary-szindróma

SSC side scatter

Tcm centrál memória T-sejt

Tem effektor memória T-sejt

Th-sejtek T-helper sejtek

TipDC TNF iNOS producing DC

TLR Toll-like receptor

TNFAIP3 TNF- α induced protein 3

Treg-sejtek regulátoros T-sejtek

VCAM-1 vascular cell adhesion molecule 1

VEGF vascular endothelial growth factor

VLA-1 very late antigen-1

VLA-4 very late antigen 4

2. Bevezetés

Az elmúlt évtizedek folyamatosan gyarapodó tudományos ismereteinek tükrében a psoriasis számos vonatkozásban új értelmezést nyert. Jelentős mértékben gazdagodtak ismereteink a komplex immun-pathogenetikai háttérrel illetően, melyben nem elhanyagolható szerep tulajdonítható a célzott hatásmechanizmuson alapuló, legkorszerűbb immunterápiás szerek bevezetésének. Az inflammatorikus kaszkárendszerben, a társbetegségek spektrumában, valamint a terápiás válaszkészségben megfigyelt hasonlóság alapján a psoriasis ma az immunmediált gyulladáshoz kapcsolódó kórképek (IMID, immune-mediated inflammatory diseases) csoportjába sorolják, melynek legismertebb tagjai a gyulladáshoz kapcsolódó bélbetegségek (Crohn-betegség, colitis ulcerosa) és a rheumatoid arthritis.

A szisztémás gyulladáshoz kapcsolódó jellegből adódóan a psoriasis mára bizonyítottan nem csupán a bőr érintettségével járó megbetegedés, hanem egy összetett, számos társbetegséggel szövődő kórkép, mely kedvezőtlenül hat a betegek mind testi, mind szellemi egészségére, csökkenti a várható élettartamot és a megélt élet minőségét egyaránt. A patológiai immunfolyamat egyes elemeinek szelektív befolyásolását célzó biológiai terápiák forradalmi áttörést hoztak a kezelésben. Az immunrendszer specifikus gátlásával a korábbi szisztémás kezelésekhez képest szignifikánsan javították a terápiás kockázat-haszon arányt. A mindennapi klinikai gyakorlatban a tünetek látványos visszahúzódása és a betegek visszajelzése az életminőség ugrásszerű változásáról önmagáért beszél.

Az eredményesség vitathatatlan ténye mellett azonban szem előtt kell tartanunk néhány megfontolást a biológiai válaszmódosítók alkalmazhatóságával kapcsolatban. A TNF- α gátló biológikumokkal kezelt páciensek 20-30%-ánál a megkezdett terápia felfüggesztése, terápiaváltás indokolt 2 éven belül, elsősorban a terápiás hatásvesztés, lényegesen kisebb hányadnál pedig a nem kívánt mellékhatások fellépése miatt. Mindemellett a kezelés költsége nem csekély terhet ró az egészségbiztosításra. A betegek biztonságos kezelése, a szükségtelen kockázatvállalás és a finanszírozási szempontok figyelembevétele alapján egyértelműen adódik az igény olyan prediktív biomarkerek definiálására, melyek a kezelés hosszú távú eredményességét hitelesen előrejelezni képesek. Ezek a klinikai praxisba bevezetve felbecsülhetetlen értékű

segítséget jelenthetnének a gyakorló orvos számára a kezelés indikációjának és esetleges módosításainak sok tényezőt együttesen mérlegelő, individuális elbírálásában.

Dolgozatom központi témájaként azokat a tapasztalatokat ismerttetem, melyeket a cutan lymphocyta-asszociált antigén (CLA) psoriasis TNF- α gátló biológiai válaszmódosító terápiájában betöltött prediktív szerepéről gyűjtöttünk az elmúlt évek kutatási munkája során. Részletesen tárgyalom ezen bőrspecifikus homing molekula szerepét fiziológiás körülmények között, valamint az egyes dermatológiai kórállapotokban, különös hangsúlyt fektetve a psoriasis immun-pathomechanizmusában igazolt jelentőségére. Vizsgálatunk bemutatása után a kapott eredményeket az elméleti megfontolásokra és a rendelkezésre álló irodalmi adatokra támaszkodva értelmezem. Végezetül összefoglalom munkánk gyakorlati jelentőségét és a távlati terveket.

2.1. A psoriasis epidemiológiája, klinikuma és genetikai háttere

A psoriasis az egyik leggyakoribb krónikus gyulladásoz kórkép. Míg az IMID csoportba tartozó rheumatoid arthritis átlagosan 0,8-1%-os, a Crohn-betegség pedig körülbelül 0,5%-os valószínűséggel fordul elő, addig a psoriasis prevalenciája 2-3%-ra tehető. (1) Dermatológiai vonatkozásban is az élvonalban szerepel a bőrgyógyászati rendelőket felkereső betegek egyik leggyakoribb betegségeként, Magyarországon 200 ezerre becsülik az érintett betegek számát. Nemek közötti megoszlása kiegyenlített, bár ízületi érintettségel szövődő formájában, az arthritis psoriaticában egyes vizsgálati eredmények szerint férfi dominancia mutatkozik. (2) Az első tünetek manifesztációjában két életkori csúcsot (~20 év és ~60 év) azonosítottak, jóllehet bármely korban előfordulhat. Meghatározott kritériumok alapján a kórkép két nagy csoportját, az I-es és II-es típusú psoriasist különítik el, melyek közül az I-es típus alapvető sajátossága a korai (<40 év) betegségkezdés, a családi halmozódás (HLA ϵ 6 allél jelenléte), valamint a súlyosabb kórlefolyás. (2, 3)

Klinikai variánsai közül a legintenzívebben kutatott forma a betegségben szenvedők mintegy 85-90%-át érintő, élesen elhatárolt, vaskos parakeratotikus hámlással fedett, erythemás plakkok kifejlődésével jellemzett plakkos psoriasis (psoriasis vulgaris). (4) Sok esetben a plakkos psoriasis bevezetőjeként jelentkezik az apró elemű, azonos méretű léziókat mutató psoriasis guttata, melyet egyértelmű összefüggésbe hoznak a megelőző, leggyakrabban felső légúti Streptococcus-fertőzésekkel. (1) Ritkább entitások a pustulosus és az inverz forma, valamint a legsúlyosabb állapotot okozó erythroderma psoriaticum. A páciensek 30-50%-ánál találunk körömtüneteket (köröm psoriasis), illetve körülbelül 10-30%-uknál lép fel ízületi érintettség (arthritis psoriatica), típusosan, bár nem minden esetben több évvel a cutan manifesztálódás után. (1, 2, 5)

A psoriasist mai tudásunk alapján multifaktoriális betegségként tartjuk számon, így kibontakozásáért a megfelelő genetikai háttér és a provokáló környezeti tényezők (pl. mechanikai trauma, fertőzések, gyógyszerek, pszichés stressz) változatos együttese tehető felelőssé. (2, 4, 5) A genomszintű asszociációs vizsgálatok eddig 9 olyan

kromoszomális régiót azonosítottak, melyek szignifikáns kapcsolatot mutatnak a psoriasis kialakulására való hajlammal (psoriasis susceptibility loci 1-9, PSORS1-PSORS9). (6) Az elsőként azonosított és egyben legtöbbet vizsgált régiót (PSORS1) a 6-os kromoszóma rövid karján elhelyezkedő MHC I génrégióba (Major Histocompatibility Complex I) lokalizálták. (7, 8) Ezen belül a legerősebb asszociáció egy HLA-C alléllal (HLA-C ω 6) igazolódott, melyet máig a legjelentősebb kockázatfokozó genetikai faktorként tartanak számon psoriasisban. (2, 5, 7) Érdekes megfigyelés azonban, hogy a gén hajlamosító szerepe guttált psoriasisban és I-es típusú plakkos psoriasisban érvényesül, míg a II-es típusú plakkos formával nem találtak összefüggést. (2, 4) Később további 14 érintett gént írtak le, melyek a bőr barrierfunkciójának fenntartásában, a psoriasis meghatározó jelátviteli útvonalaiiban és az antigén prezentációban fontos fehérjéket, illetve a T-sejt szignalizációban nélkülözhetetlen szerepet betöltő citokinmolekulákat kódolnak. (2, 4, 5, 7, 9) A genetikai biomarkerek definiálása a megváltozott biológiai mechanizmusok feltárásán keresztül lehetőséget teremt a célzott immunterápiák spektrumának folyamatos bővítésére. (5)

2.2. A psoriasis immun-pathogenezisének rövid összefoglalása

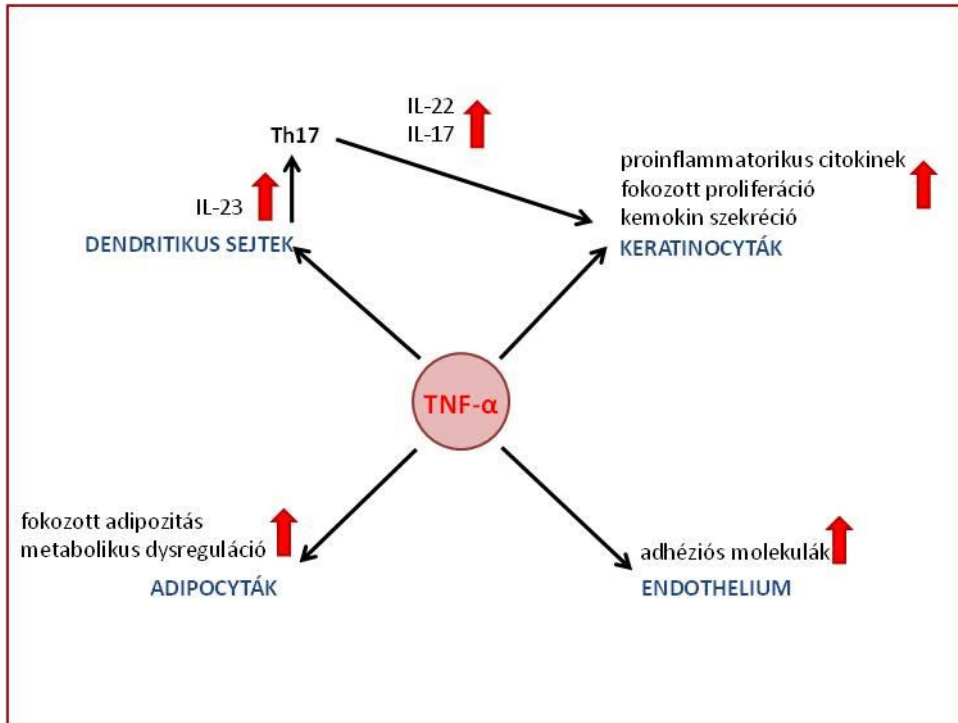
A psoriasis pathogenezisének legalapvetőbb magyarázata, hogy genetikailag determinált egyéneknél, különböző környezeti trigger tényezők hatására provokálódó, mindaddig nem egyértelműen definiált antigén(ek)re adott immunválasz elhúzódik, s egy patológiás, önmagát fenntartó, krónikus gyulladás formájában jellegzetes bőrtüneteket okoz. Míg korábban a hámsejtek kóros proliferációját és érési zavarát gondolták a primer pathogenetikai eseménynek, napjainkra egyértelműen körvonalazódni látszik, hogy a folyamatért valójában a veleszületett és az adaptív immunitás egyidejű érintettsége, a keratinocyták és az immunsejtek kölcsönös egymásrahatása, illetve számos szolubilis mediátor együttesen felel. (1, 4, 10) A komplex inflammatorikus kaskádrendszer eredménye a psoriasisra jellemző szövettani kép: a parakeratosis, az

acanthosis, a típusos dermo-epidermális gyulladással infiltrátum, illetve az angiogenezis.
(11)

A folyamatsor beindításában nem a hámsejteké, hanem a bőrt infiltráló T-lymphocytáké a meghatározó szerep, melyek jellegzetes megoszlást mutatnak a psoriasisos plakk területén. (8, 12) A dermisben a gyulladással T-lymphocyták döntő többsége CD4+ helper T-sejt, míg az epidermisben CD8+ cytotoxikus T-sejteket találunk nagy számban. (2, 10, 11) A lymphocytamigráció iniciálása psoriasisban továbbra sem minden részletében tisztázott kérdés. A környezeti provokáló faktorok, mint például mechanikai stressz vagy bakteriális antigének, sejtfalkomponensek következményeként a stressz szituációnak kitett hámsejtekből DNS fragmentek szabadulnak fel. A saját DNS-szakaszok kapcsolódnak a keratinocyták által termelt, psoriasisban felszaporodó antimikrobiális peptid cathelicidinhez (LL37), majd ez a komplex Toll-like receptorokon (TLR7, 9) keresztül aktiválja a psoriasisos bőrben jelentős mennyiségben fellelhető plasmocytoid dendritikus sejteket (pDC). (4, 11, 13, 14, 15) A pDC-ek által szekretált interferon- α (IFN- α) kötődésére a dermisbe lokalizálódó másik dendritikus sejt típus, a myeloid dendritikus sejt (mDC) aktiválódik, a bőrt elvezető nyirokcsomókba vándorolnak, majd érési folyamatuk végén a T-sejtek differenciálódását irányító citokinek tömeges szekréciója mellett prezentálják a provokáló (auto)antigént a T-lymphocyták számára. (11, 3, 15) A szekretált IL-12 a T-helper 1 (Th1) irányú differenciáció kulcs citokinmolekulájaként ismert, nem véletlen, hogy néhány évvel ezelőttig a pikkelysömört Th1-mediálta kórképként tartották számon. (3, 16) Ekkor azonosították azonban a korábban ismeretlen Th17 sejt populációt, melynek érését a TGF- β 1, IL-1 és IL-6 szignalizáció, terminális differenciációját, tartós fennmaradását és aktivációját pedig egy alapvető pathogenetikai fontosságúként azonosított citokin, az IL-23 irányítja. (12, 17, 18, 19)

Psoriasisban mind a CD4+, mind a CD8+ T-sejtek tömegesen termelnek Th1 és Th17 citokineket, melyek egy összetett citokinhálózatba rendeződve befolyásolják a hámsejtek és szinte valamennyi többi immunsejt működését, biztosítva ezzel a psoriasisos fenotípus manifesztálódását. (8, 12, 14) A Th1 citokinek közül szerteágazó funkciójuknak köszönhetően kiemelt szerepet tulajdonítanak a TNF- α -nak és az IFN- γ -nak. A T-sejtek nem kizárólagos forrásai a TNF- α -nak, valójában számos más

sejtféleség, így macrophágok, dendritikus sejtek [psoriasisban külön sejtcsoport: TNF iNOS producing DC-ek (TipDC)], keratinocyták, NK-sejtek, neutrophil granulocyták is szekretálják. (12, 18) Citokinek egész sorának (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, IFN- γ) aktivációjára képes, az endothelsejtek adhézións molekuláinak expresszió fokozásán keresztül stimulálja az immunsejtek gyulladáshos bőrbe történő áramlását, (8, 12, 16) és proangiogén hatása is ismert. (8) (1. ábra) Az IFN- γ szintén többféle sejt (Th1 lymphocyták, dendritikus sejtek, NK-sejtek) produktuma lehet (12); serkenti az antigénprezentáló sejtek érését, aktiválódását: a mDC-ek IL-1 és IL-23 elválasztásának fokozásával pozitívan befolyásolja a Th17 útvonal működését (2, 11, 20), támogatja az immunsejtek bőrbe történő migrációját, és a hámsejtek apoptózisának gátlásán keresztül hozzájárul a keratinocytá hyperproliferáció kialakulásához. (8, 12) A Th17 citokinek alapvető képviselői az IL-17, IL-22 citokinmolekulák, jóllehet az elmúlt évek vizsgálati eredményei felvetik egy új, különálló sejtcsoport (Th22) mint az IL-22 fő forrásának lehetőségét. (12, 13) A Th22 sejteket vélhetően Langerhans-sejtek és dermális DC-ek aktiválják, differenciálódásukhoz mindössze egyetlen citokin, az IL-23 jelenléte nélkülözhetetlen. (12) Az IL-17 többek között indukálja számos kemokin (pl. Th17 kemotaxisban fontos CCL20), proinflammatorikus citokin (pl. Th17 differenciáló IL-6) és antimikrobiális peptid elválasztását, a keratinocyták stimulált IL-8 termelésén keresztül pedig részben felelőssé tehető a plakkok területén megfigyelhető neutrophil akkumulációért. (3, 11, 12, 13, 21) Az IL-22 legismertebb mediátora a keratinocytá hyperproliferációnak és hypogranulosishnak, emellett fokozza többféle citokin, kemokin és akutfázis fehérje termelődését, valamint a hámsejtek antimikrobiális peptid szekrécióját. (3, 11, 12) A citokinmolekulák 2 szignáltranszdukciós útvonalon keresztül fejtik ki hatásukat: az I-es típusú interferonok (IFN- α), valamint az IFN- γ , IL-23, IL-12, IL-22 esetében a JAK-STAT (Janus kinase – signal transducers and activators of transcription) jelátviteli út, míg TNF- α esetén elsősorban az NF- κ B (nuclear factor- κ B) útvonal aktivitását igazolták. (4)



1. ábra A TNF-alpha biológiai hatásai. A TNF-alpha proinflammatorikus molekulaként számos útvonalon serkenti a gyulladás molekuláris folyamatát. A vaszkuláris endothelsejtek adhéziós molekuláinak expresszióját serkentve elősegíti a gyulladásos sejtek lézionális bőrbe történő migrációját; serkenti a keratinocyták további gyulladásos citokin-termelését; aktiválja a dermális makrophágokat és dendritikus sejteket; az adipocyták működésének befolyásolásával metabolikus dysregulációt okoz.

Jó néhány vizsgálat rámutat a bőrbe vándorló T-lymphocyták meghatározó jelentősége mellett a bőrben tartósan jelenlévő, ún. rezidens effektor memória T-sejtek szerepére. Ezek fizioológias körülmények között az antigénnel való első találkozás során keletkeznek a bőrt draináló nyirokcsomókban, majd a bőrbe migrálva hosszú időn keresztül helyhez kötötten maradnak, s a pathogén ágens újbóli behatolása esetén azonnal aktiválódó, hatékony immunválaszt biztosítanak. Psoriasisban azonban kórosan fokozott működésüket mutatták ki, és a kutatási eredmények szerint bizonyos esetekben ez a sejtcsoport talán önmagában is képes a plakkok iniciálására direkt citokin (IFN- α ,

IL-12, IL-18) stimuláció hatására. (22, 23) A psoriasis bőrt infiltráló T-sejtjei tehát alapvetően 3 forrásból származhatnak: 1. rezidens effektor memória T-sejtek, 2. keringő effektor memória T-sejtek nem antigén-specifikus toborzása, 3. nyirokcsomókban aktiválódó, effektor memória sejté alakuló centrális memóriasejtek és újonnan differenciálódó naiv T-lymphocyták, melyek a gyulladással bőrbé migrálnak. (14, 22)

Az utóbbi években egyre nagyobb figyelem irányul a CD4+CD25+FoxP3+, ún. regulátoros T-sejtek (Treg-sejtek) pathogenetikai szerepére is. A Treg-sejtek fiziológiai körülmények között kiemelt fontossággal bírnak az immunválasz lecsendesítésében, valamint az immuntolerancia kialakításában az effektoros funkciójú T-lymphocyták aktivációjának, citokin termelésének és proliferációjának gátlásán keresztül. Psoriasisban egyes kutatócsoportok a Treg-sejtek számbeli, míg mások elsősorban funkciós csökkenését, károsodott immuninhibitoros működését mutatták ki. (4, 13, 22) Végezetül mindenképp meg kell említenünk azokat a sejteket, melyeknek részvételéről a kórkép pathomechanizmusában kevesebb, ám egyre bővülő ismeretanyaggal rendelkezünk. Az NK-sejtek interakciója a hámsejtekkel és az antigénprezentáló sejtekkel aktivációs szignálként hat, és az aktivált sejtek számos proinflammatorikus (TNF- α , IFN- γ , IL-17) citokint termelve szinergizmusban működnek a Th1 és Th17 útvonalakkal. (10, 16) A psoriasisos plakkokban nagy számban detektálhatók hízósejtek, melyek 70%-a IFN- γ -t szekretál. Jelentős mértékű TNF- α és IL-8 elválasztásukkal a neutrophil-migrációt, míg proangiogén mediátorokkal az angiogenezist támogatják. (12, 13) A neutrophil granulocyták a T-lymphocyták toborzásával és aktivációjával, illetve a keratinocyták osztódásának, érésének modulálásával járulnak hozzá a komplex gyulladással körfolyamat fenntartásához. (12)

2.3. A CLA szerepe fiziológiai körülmények között

2.3.1. Az adaptív immunitás cselekvő és emlékező funkciója

Szemben a veleszületett immunválasz gyors, hatékony, de ugyanakkor kevésbé specifikus természetével az adaptív immunrendszer lassabban kifejlődő, ám a kiváltó antigénre nagyfokú specificitást mutató immunreakciót mediál. A lépésről-lépésre megfelelően szabályozott immunválasz nélkülözhetetlen a szervezet homeosztázisának fenntartásához, a kórokozók eliminálásához, valamint a tumorképződés eredményes megakadályozásához. Ugyanakkor nem csak az elégtelen, hanem a kórosan fokozott immunreakciók is a szervezet pathológiás állapotához, autoimmunitás és krónikus, szövetpusztító gyulladás kialakulásához vezethetnek. (14)

Az adaptív immunitás fiziológiás működésében kiemelkedő szerepet tulajdonítanak a különböző T-sejt populációknak, melyek sejtfelszíni markermintázata, migrációs tulajdonsága és betöltött funkciója nagyfokú diverzitást mutat. Az antigén expozíciónak még ki nem tett, ún. naiv, keringő T-lymphocyták expresszált homing markereik (L-selectin, CCR7) révén rendszeresen átszűrődnek a perifériás nyirokcsomókban. Abban az esetben, ha a perifériás szövetből az afferens nyirokutakon érkező, aktivált dendritikus sejtek (DC), macrophágok valamely kórokozóból vagy épp saját szövetből származó peptid (auto)antigént mutatnak be a nyirokcsomóban a megfelelő T-sejt receptorral rendelkező lymphocytáknak, azok gyors aktiválódását és különböző irányú differenciálódását váltják ki. (22) A képződő effektor lymphocyták részben CD4+ Th-sejtek -melyek szekretált citokinprofiljuk révén több alcsoportba sorolhatók: Th1, Th2, Th17-, részben pedig citotoxikus hatású CD8+ T-sejtek. Az effektor T-lymphocyták homing molekuláik heterogén jellegéből adódóan bármely gyulladásos szövetbe képesek vándorolni, függetlenül a kiváltó antigénnel való első találkozás helyétől. (23, 24) Gyorsan hatnak, de feladatuk végrehajtása után gyorsan is eliminálódnak. A primer immunválasz során az antigén-stimuláció kapcsán keletkező másik fő sejtpopulációt a memória T-lymphocyták adják, melyek effektor memória (Tem) vagy centrál memória (Tcm) T-sejtek lehetnek. (22, 23) Az elmúlt idők meglepő felfedezése, hogy a szintén effektor funkciót betöltő Tem sejtek aktiválódásuk és érésük során jellegzetes migrációs molekula mintázattal jelölődnek. A folyamat „imprinting” néven vált ismertté az irodalomban, s lényege, hogy ezek a sejtek szelektív készséget mutatnak azon perifériás szövetbe történő vándorlásra, amelynek elvezető nyirokcsomóiban az adott antigén

hatására aktiválódtak. (22, 23, 25, 26) Az érintett perifériás területre migrálva a Tem sejtek jelentős része tartósan a szövetben marad. (23) Ezek a szövetspecifikus, ún. rezidens Tem sejtek a perifériás „immunsurveillance” nélkülözhetelen részének bizonyultak, az újbóli antigénstimulus esetén a veleszületett immunitással szinergizmusban azonnal aktiválódó, hatékony immunreakciót biztosítanak. (22, 23, 24) Kóros funkcionálásuk pathogenetikai jelentőségét azonban több immunmediált gyulladásban, így psoriasisban is leírták. (22, 27, 28) Érdekes információ, egy nemrégiben megjelent közlemény alapján, hogy a vérben keringő és az extralymphoid szövetekben rendszeresen „örjáratozó” Tem sejtek, illetve a periférián tartósan jelenlévő, rezidens Tem sejtek valójában két, fenotípusosan is különböző Tem populációt képeznek. A specifikus rezidens memória markereket azonban még nem sikerült teljes mértékben azonosítani. (CD8+ T-sejteknél jellemzőnek találták a CD103 ($\alpha E\beta 7$ integrin) és a CD69 sejtfelszíni molekulák expresszióját.) (28) A Tcm sejtek a naiv T-lymphocytákhoz hasonlóan L-selectin és CCR7 pozitivitást mutatnak, így szintén a vérkeringésben, valamint a perifériás nyirokcsomókban találhatóak, s csak kis hányaduk képes a perifériás szövetbe történő migrációra. Az esetleges antigén reexpozió következtében rövid idő alatt Tem sejtekké differenciálódnak, majd a perifériás szövetbe kerülve nagymértékben hozzájárulnak az eredményes másodlagos immunválasz lezajlásához. (22, 23, 28)

2.3.2. A szövetspecifikus migráció szabályozása. A bőrspecifikus homing mechanizmus alapja

Egyre nagyobb számú irodalmi adat támasztja alá a tényt, hogy valóban, minden perifériás non-lymphoid szövet -így a bélrendszer, a tüdő és a bőr- esetében létezik egy adhéziós molekulák, kemokinek és kemokinreceptorok meghatározott kombinációjából álló, komplex szabályozási rendszer, ami a Tem sejtek szövetspecifikus migrációját teszi lehetővé. (23) A szelektív jelölődés, vagyis az imprinting elsődleges irányítói az antigénprezentáló sejtek, melyek a nyirokcsomókban szekretált citokinjeik révén nemcsak a T-lymphocyták eltérő irányú differenciálódását, hanem ezzel párhuzamosan

a szövetre jellemző homing markereik expresszáldását is vezérlik. Korábban felmerült annak a lehetősége, hogy az egyes szövetekben típusosan fellelhető DC-ek önmagukban elegendők a T-sejt programozáshoz. Később azonban, mikor kimutatták, hogy ugyanaz a DC csoport a Peyer-plakkokból vagy a mesenterialis nyirokcsomókból eltérő kísérleti médiumokban többfajta homing mintázat kialakítására képes, valamint, hogy a mesenteriumba ültetett perifériás nyirokcsomókban a béleredetű DC-ek jelenlétének ellenére sem generálódtak bélspecifikus markerek, nyilvánvalóvá vált, hogy az imprinting folyamatát a DC-ek eredete nem kizárólagosan, hanem a lokális mikrokönyezettel együttesen képes csak befolyásolni. (23, 24, 29) A mikrokönyezetben elsősorban olyan szolubilis mediátoroknak tulajdonítanak jelentőséget, amik vagy a nyirokcsomóban termelődnek, vagy az adott perifériás szövetféleségben, ahonnan az afferens nyirokerek vagy maguk a DC-ek szállítják a nyirokcsomóba, az antigénprezentálás és az imprinting helyszínére. (24, 29) Azok az imprinting mechanizmusok, melyek összességében véve valamely szövet irányába köteleződnek el, egyidejűleg gátolják a többi szövetre jellemző homing molekula összetétel kialakulását. (23) A bélspecifikus markermintázat eddig azonosított tagjai a T-sejtek felszínén expresszáldó $\alpha 4\beta 7$ integrin, mely a bélrendszer endothel felszíni adhéziós molekulájához, a MADCAM1-hez (mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1) kapcsolódik, valamint a kemokinreceptor CCR9, melynek bélasszociált kemokinpárja a CCL25. (23, 27) A lokális szolubilis faktorok közül kiemelendő az A-vitamin aktív formája, a retinsav, ami mind az $\alpha 4\beta 7$ integrin, mind a CCR9 expressziót serkenti, illetve a D-vitamin aktív formája [1,25(OH)₂D₃], ami pedig ugyanezen molekulák sejt felszíni kifejeződésére szuppresszoros hatást gyakorol. (23, 30) Ennek megfelelően a mezenterialis nyirokcsomókban számos, az A-vitamin retinsavvá történő alakításáért felelős enzimet detektáltak nagy számban. A tüdőhoming lépései egyelőre sokkal kevésbé ismertek, mindenesetre egy adhéziós molekula, az $\alpha 1\beta 1$ integrin vagy VLA-1 (very late antigen-1) szerepét valószínűsítik, mely jelentős mértékben expresszáldik a légutakban az RSV(respiratory syncytial vírus)-specifikus CD8+ memória T-lymphocytákon. (23)

A felismerés, hogy a bőr mint az emberi test legkülső rétege, nem csupán egy passzív fizikai barrier szervezetünk és a külső környezet között, hanem egy immunológiailag aktív védelmi vonal, az 1900-as évek elejére tehető. A század végére pedig már az is

tudottá vált, hogy lévén a patogén ágensek támadásának leggyakrabban kitett szerv, a humán bőr valójában a legkomplexebb immunológiai hálózattal rendelkezik, melyet önálló elnevezéssel a bőr immunrendszereként [skin immune system (SIS)] definiáltak. Nem véletlen tehát, hogy mind a mai napig intenzív figyelem irányul a bőr normál, illetve kóros immunfolyamatainak megértésére. (14, 22)

A bőr rezidens immunsejt populációjának létrejöttében, a bőrspecifikus lymphocytá migráció megteremtésében -a fentebb említetteknek megfelelően- a bőrt draináló nyirokcsomókba vándorló, antigénprezentáló dendritikus sejtek és a lokális mikro környezet sejtjei, szolubilis mediátorai vesznek részt. A nyirokcsomókban generálódó homing markerek közül kiemelkedik a cutan lymphocytá-asszociált antigén (CLA), mely nagyfokú szelektivitással engedi a T-lymphocytákat a bőrbe vándorolni. Ismeretes azonban, hogy jelenléte a T-sejt membránjában önmagában még nem elegendő, a bőrspecifikus migráció zavartalanságához meghatározott kemokinreceptorok szimultán expressziója és ezek kemokinpárjainak jelenléte szükséges. A kemokinreceptorok közül legismertebbek a CCR4, melynek kemokinligandjai az endothel felszíni CCL17 és CCL22; valamint a CCR10, kemokin molekulájával, a keratinocyták által elválasztott CCL27-tel. (23, 29, 30) A bőrhomingban azonosított további kemokinreceptor-kemokin párok: CCR6-CCL20; CXCR3-CXCL9, CXCL10, CXCL11; CCR8-CCL1 (24, 27, 31, 32) A szolubilis faktorok közül az $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ CCR10-indukáló hatása bizonyított. (29, 30) Továbbá a T-sejtek bőrhomingjában nagy valószínűséggel a keratinocyták produktumaiként az antimikrobiális peptid (pl. LL37) is fontos szerepet játszanak. (29)

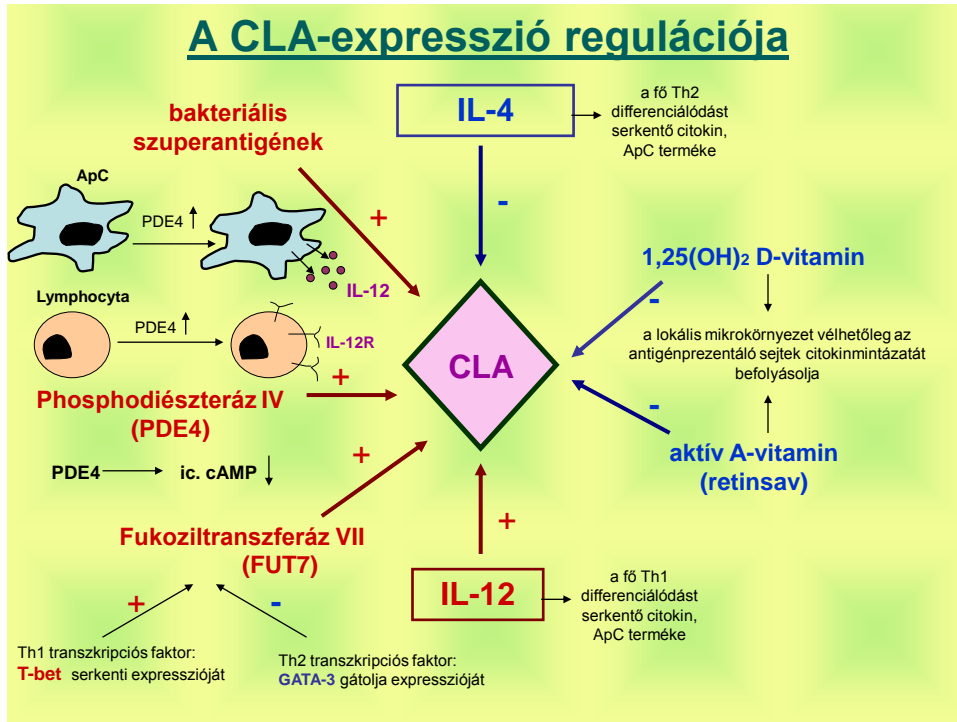
2.3.3. A CLA definíciója, expressziójának szabályozása

A CLA a bőrbe migráló Tem sejtek jellegzetes sejt felszíni antigénje, a membránfehérje P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) szénhidrát epitópja. (31) Ha nem is 100%-os identitást, de jelentős átfedést mutat a 6-sulfo sialyl Lewis X determinánssal, szelektív detektálásában a HECA-452 monoklonális antitest használatos. (33, 34) Specifikus ligandjai az endothel felszíni P- és E-selectin molekulák. (31, 35) Nemrégiben vált

ismeretessé, hogy a PSGL-1 mellett a T-lymphocytákon állandó kifejeződést mutató sialomucin molekula, a CD43 szintén képes az oligoszacharid CLA motívum kialakítására. A CD43-hoz kötött CLA azonban kizárólagos affinitást mutat az E-selectinhez. (36) A CLA konstitutívan expresszálódik a perifériás vérben keringő Tem sejtek felszínén, és gyulladás során kifejezett upregulációját figyelték meg. (34, 35) Gyulladásmentes bőrben a nyugvó állapotban lévő endothelsejtek is csekély mértékben, de expresszálják a leukocyta migrációban nélkülözhetetlen adhéziós molekulákat (így P- és E-selectint is), ami alapján egyértelművé válik, hogy a CLA - P/E-selectin kapcsolódás a T-sejtek mind fiziológiai körülmények között lezajló, mind a gyulladásos kaszkárendszer által stimulált, bőrspecifikus vándorlásában vezető szerepet tölt be. (27, 37) Ezen ismeretek birtokában nem meglepő az a vizsgálati eredmény, miszerint a normál, egészséges bőr $\sim 1 \times 10^6 / \text{cm}^2$, összességében pedig mintegy 2×10^{10} T-lymphocytát tartalmaz, közel kétszer annyit, mint a perifériás vér, és $>80\%$ -a a bőr rezidens T-sejtjeinek CLA, CCR4 és CCR6 koexpressziót mutat. (27) A bőr rezidens T-sejtjeinek 95% -a CD45RO+ memória sejt, ennek döntő többsége a Tem csoportba tartozik, s csupán néhány %-ban képviseltetik magukat a Tcm sejtek, naiv T-lymphocyták és Treg-sejtek. (22, 27) Egy másik adat szerint élettani körülmények között a CLA+ Tem sejtek meghatározó hányada ($\sim 98\%$ -a) a bőrben található, míg csupán a fennmaradó $\sim 2\%$ kering a periférián. (27) Az összes keringő T-sejt $10-15\%$ -a CLA+ T-lymphocyta. (37) A bőr rezidens Tem sejtjei javarészt Th1 fenotípusú lymphocyták, míg a Th2 sejtek száma az előbbiekéhez képest lényegesen kisebb. (27) A jellegzetes megoszlás a CLA expressziót szabályozó mechanizmusok ismeretében válik érthetővé.

Az expressziót befolyásoló tényezők komplex rendszere egyelőre nem minden részletében azonosított. Az antigénprezentáló sejtek Th1 polarizáló citokinmolekuláját, az IL-12-t a bőr elvezető nyirokcsomóiban a CLA upregulációjának elsőszerű szignáljaként tartják számon. Ezzel szemben a Th2 útvonal fő differenciációs citokinje, az IL-4 gátló hatást fejt ki a bőrspecifikus migráció központi molekulájának termelődésére. (29, 31, 38) Ugyanakkor, ahogy fentebb már részben utaltunk rá, a CLA nem a Th1 fenotípusú Tem sejtek specifikus markere, csekélyebb mértékben, de Th2, Th17, Treg-sejtek, NK-sejtek, sőt még kisebb számban B-lymphocyták, endothelsejtek, monocyták és granulocyták is expresszálhatják. (27, 35, 39) A Th1 lymphocyták

dominanciájára a CLA⁺ T-sejt populációban azonban további magyarázattal szolgál a szintézisben részt vevő enzimek és ezek transzkripció szintű szabályozásának ismerete. A sialyl Lewis X és a 6-sulfo sialyl Lewis X struktúrák bioszintézisében egy N-acetylglukózamin-6-O-sulfotranszferáz, öt β 1,4-galaktoziltranszferáz, kettő α 2,3-sialyltranszferáz és öt α 1,3-fukoziltranszferáz szerepét igazolták. (38) Ezek közül a CLA epitóp keletkezésének utolsó lépését katalizáló, a termelés sebesség meghatározó enzime a transzkripcionálisan aktiválható α 1,3-fukoziltranszferáz VII (FUT7), de vélhetőleg a β 1,4-galaktoziltranszferáz szintén kulcsfontosságú a folyamatban N-glycan szintézisében keresztül. (38, 40) A FUT7 transzkripció szintű átíródását az IL-12 és IL-4 citokinek a Th-útvonalak differenciálódását reguláló transzkripció faktorok segítségével kontrollálják. (38) A FUT7 promoter szakasza kettős befolyásoltság alatt áll: a Th1 differenciálódást közvetítő transzkripció faktor, a T-bet serkenti, míg a Th2 differenciálódás transzkripció faktora, a GATA-3 gátolja a FUT7 expresszióját. A két transzkripció faktor egymással és további reguláló fehérjékkel interakcióban dinamikusan modulálja a FUT7 promoter régiójához kötődő transzkripció komplexum összetételét, így szabályozva az átíródás mértékét. (40) Az IL-12 esszenciális szerepét mutatja, hogy a további serkentő faktorok egy része épp ezen citokin mennyiségi modulálásán keresztül fejti ki CLA expressziót fokozó hatását. A phosphodiészteráz enzim 4 (PDE4) az ic. cAMP bontásával eredményez szignáltranszdukció folyamatot, melynek következménye az antigénprezentáló sejtek IL-12 elválsztásának serkentése. Ez pedig abszolút jelentőséggel bír a szuperantigén-indukálta CLA-upregulációban. A bakteriális szuperantigének feltehetőleg a PDE4 aktivitás serkentésével fokozzák a DC-ek IL-12 szekrécióját, és így érvényesülhet az IL-12 CLA szintézist stimuláló hatása. (41) Az antigénprezentáló sejtek által biztosított citokin milieu mellett ismét hangsúlyozni kell a nyirokcsomó sejtjei és szolubilis faktorai által megteremtett mikrokörnyezet fontosságát. Dermális fibroblastokkal közös sejt kultúrában tenyésztve a T-lymphocyták CLA expressziójának fokozódását figyelték meg. (29) Épp ellenkezőleg, az A-vitamin és a D-vitamin nukleáris hormon receptoron keresztül ható aktív formája szupprimálja a CLA génszakasz átíródását. (29, 30, 42) Feltételezik azonban, hogy még további számos tényezőnek kell léteznie, melyek finoman szabályozott rendszerben, egymással összhangban felügyelik a bőr-imprinting mechanizmusának összetett folyamatát. (2. ábra)



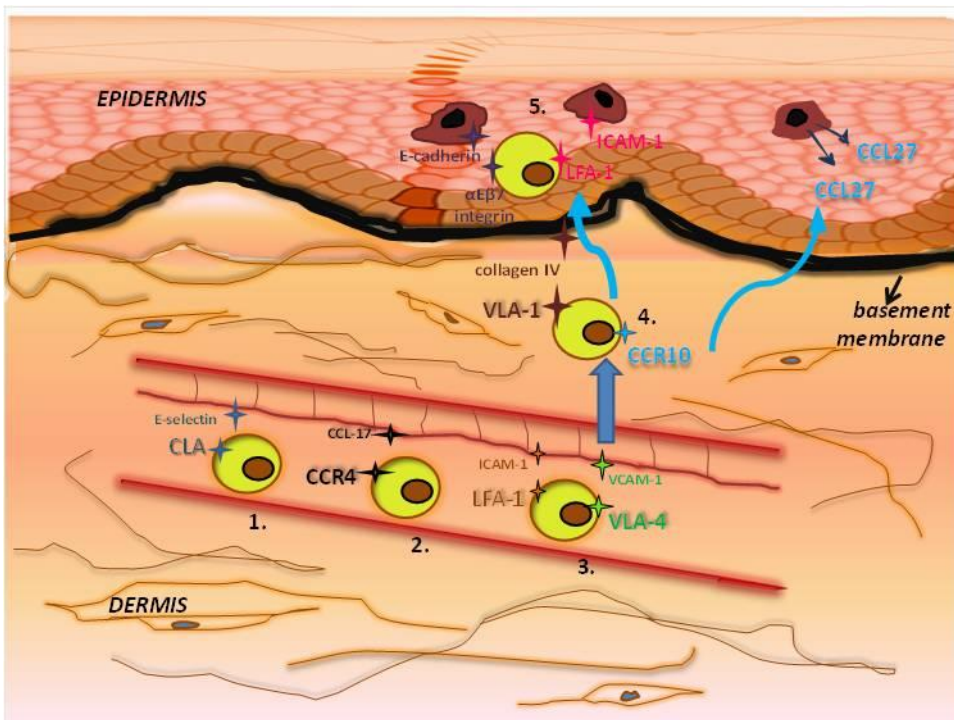
2. ábra A CLA expresszió szabályozásának alapjai. A serkentő és a gátló mechanizmusok együttes hatása. Az expresszió legfőbb pozitív szignáljai: IL-12, bakteriális szuperantigének és a phosphodiészteráz IV útvonal, a T-bet transzkripció faktor által serkentett fukoziltranszferáz VII enzim. A negatív szignálok: IL-4, GATA-3 transzkripció faktor által gátolt fukoziltranszferáz VII enzim, A-vitamin és D-vitamin aktív formája. ApC=antigénprezentáló sejt; IL-12R=IL-12 receptor

2.3.4. A T-lymphocyták extravasatiojának lépései a bőrben

A cutan homing markerek jellegzetes kombinációjának expresszációja a T-lymphocyták felszínén alapfeltétel, de csupán az első lépés ezen sejtek számos ponton kontrollált, bőrspecifikus migrációjában. A dermális mikrovaskulátúrába érkezve a keringésből történő extravasatiót szövetspecifikus, illetve non-specifikus molekulapárok, majd a bőr kompartmentekben megfigyelhető típusos T-sejt eloszlást adhéziós molekulák és kemokinek együttese irányítja. (3. ábra) A normál bőrben detektált nagyszámú T-lymphocyta jelenléte és ezek fenotípusos megoszlása –ahogy fentebb részletesen tárgyalásra került- bizonyítja, hogy az extravasatio normál bőrben,

fiziológias körülmények között is megvalósul, bár kétségtelen, hogy a szervezetet érő legkülönbözőbb támadásokra adott gyulladáscsökkentő válaszreakciók következtében lényegesen intenzívebbé válik. (33) Az extravasatio megindulásának feltétele a nagy sebességgel áramló T-sejtek lelassítása: a lymphocyta membránban expresszálandó CLA és az endothel felszíni E/(P)-selectin kapcsolódása egy rendkívül specifikus, ám meglehetősen laza, reverzibilis kötődést eredményez, ami azonban a T-sejtek fékezésével épp a szükséges iniciációs lépést jelenti a szöveti kivándorlás folyamatában. (29, 33, 37) A lymphocyták lassú, gördülő mozgása (ún. rolling) során lehetőség nyílik a T-sejt felszíni bőrspecifikus kemokinreceptorok és endothelen expresszálandó kemokinpárjaik találkozására (legismertebb a CCR4-CCL17 interakció). Ennek eredményeként végbemegy a szükséges konformációs változás a nem bőrspecifikus adhéziós molekulák, a T-sejt membránba lokalizálódó integrinek szerkezetében, melyek csak így képesek az endothelsejteken található megfelelő ligandjukhoz, az immunglobulin szupercsalád képviselőihez kötődni. (29, 31, 33, 37) A lymphocyta integrinek (**LFA-1**, lymphocyte function-associated antigen 1 és **VLA-4**, very late antigen 4 = $\alpha 4\beta 1$ integrin) kapcsolódása endothel felszíni megfelelő pármolekulájukkal (**ICAM-1**, intercellular cell adhesion molecule 1 és **VCAM-1**, vascular cell adhesion molecule 1) nem kizárólag a bőrben történő extravasatio sajátja, de a kezdeti, szelektivitást biztosító, laza kötődés után erősen, irreverzibilisen tapasztja a T-lymphocytákat a vaszkuláris endothelrétegre, és ily módon utat enged az érfalon keresztüli transzmigráció, a diapedesis eseménysorozatnak. (29, 33, 43) A perivaszkulárisan akkumulálódó T-sejtek egy része mintegy programszerűen az epidermisbe vándorol. Vizsgálati adatok szerint ezeknek a sejteknek szignifikáns hányada Th1 lymphocyta. Sejtmembránjukban expresszálandó $\alpha 1\beta 1$ (VLA-1) integrin molekulájuk kötődik a basal membrán kollagén IV komponenséhez, és ennek segítségével migrálnak a dermisből az epidermális kompartmentbe. (14, 15) A hámba megérkezve VLA-1 downregulációjukkal párhuzamosan tömegesen kezdenek expresszálni $\alpha E\beta 7$ integrint (CD103), melynek target molekulája a keratinocytákon fellelhető E-cadherin. (43) Kettejük kapcsolódásának következményeként a T-sejtek tartósan az epidermisben maradhatnak. (15) A gyulladás során észlelt különbséget a T-sejt alcsoportok lokalizációját illetően (CD4+ Th-sejtek a dermisben, CD8+ citotoxikus sejtek az epidermisben) részben magyarázni látszik az a tény, hogy a CD8+ T-

lymphocyták prominens mértékben expresszálják membránjukban $\alpha E\beta 7$ integrint, valamint CXCR3 és CCR10 kemokinreceptorokat. (43) A CCR10 kizárólag a bőrbe homingoló T-sejteken található, és mivel kemokinpárját, a CCL27-et keratinocyták szekretálják, így nem csupán a bőrbe, hanem azon belül is az epidermális rétegbe vezérli az érintett, elsősorban CD8⁺ T-sejteket. (29) A psoriasis mint krónikus immunmediálta gyulladás mindazon tényezője, mely a leukocytá migráció fokozott és gyulladásra specifikus természetéért felel, a következő fejezetben kerül kifejtésre.



3. ábra A T-sejtek extravasációjának lépései a bőrben. **1.** CLA--E-selectin kapcsolódása (laza, de specifikus kapcsolat) → ROLLING (lassú T-lymphocytá tovagördülés) **2.** CCR4 és CCL17 kapcsolódása (a lassú rolling során a kemokinreceptorok letapogatják az endothelsejtek kemokinmolekuláit → ha pármolekulák, kapcsolódnak egymáshoz) A CLA és a CCR4 együttese felel a bőrspecifikusságért. **3.** LFA-1--ICAM-1, illetve VLA-4--VCAM-1 kapcsolódás (nem specifikus, de nagyon erős kapcsolat, a transzmigráció feltétele → az integrinek konformáció-változása, affinitás-fokozódása a laza kötődések által kiváltott szignáltranszdukció eredménye) **4.** A T-sejtek egy szubpopulációja VLA-1-et ($\alpha 1\beta 1$ integrin) expresszál (Th1!), ez a molekula a basalmembrán IV kollagénjéhez kötődik. Így jut ki a T-sejt az epidermisbe. Az epidermisbe való vonzást a keratinocyták által szekretált kemokin, a CCL27 biztosítja; receptora, a CCR10 molekula a T-lymphocyták felszínén található. **5.** Az epidermisbe jutott T-sejteken a VLA-1 downregulálódik, helyette az $\alpha E\beta 7$ integrin expressziója fokozódik, ami a

keratinocyták E-cadherinjéhez kötődik. Emellett a T-sejt felszíni LFA-1 molekulája a hámsejt ICAM-1 integrinjéhez kapcsolódik. Így biztosított a T-sejt epidermalis lokalizációja.

2.4. A CLA pathogenetikai szerepe a bőr kóros folyamataiban

2.4.1 A CLA szerepe psoriasisban

A psoriasis pathogenezisében a T-lymphocyták (a Th1 és a Th17 útvonal) az adaptív immunválasz részeként központi szerepet játszanak. Bőrspecifikus migrációjuk egyrészt a pathológiás immunfolyamat és a következményes klinikai tünetek iniciálásában, másrészt -a legújabb ismeretek alapján- a psoriasisban kórosan funkcionáló rezidens Tem sejtcsoport kialakulásában is alapvető fontosságú.

A CLA jelentőségét a cutan homing mechanizmusában megannyi vizsgálati eredmény támasztja alá, melyek alapján a psoriasisos plakkokban található T-lymphocyták zöme (bizonyos kemokinreceptorok -pl. CCR4, CCR6, CCR10, CXCR3- egyidejű expressziója mellett) CLA pozitivitást mutat. (44, 45, 46, 47) A periférián keringő CLA+ T-sejtek mennyisége, valamint a psoriasis súlyossága között is kimutattak korrelációt, melynek jellege a betegség fenotípusának és stádiumának (akut vs. krónikus) függvényében változott. (48, 49, 50)

Számos in vitro vizsgálat ezzel egybehangzóan igazolta, hogy a pathomechanizmus T-sejtek által mediált lépései valójában mind a CLA+ populációnak tulajdoníthatók: A neutrophil chemoattraktáns IL-8 nem kizárólag az aktivált keratinocyták terméke, a CLA+ T-lymphocyták ugyanis szintén képesek elválasztására, ezzel támogatva a plakkok területén észlelt neutrophil granulocyták akkumulációt. (51) A típusos keratinocyták-aktivációért ugyancsak a CLA+ T-sejtek felelnek, több fehérjekódoló génszakasz (CCL20, CCL28, iNOS, CD166, amphiregulin, tartarát-rezisztens foszfatáz ACP5) átíródásának serkentésén keresztül, mely fehérjék vélhetőleg a

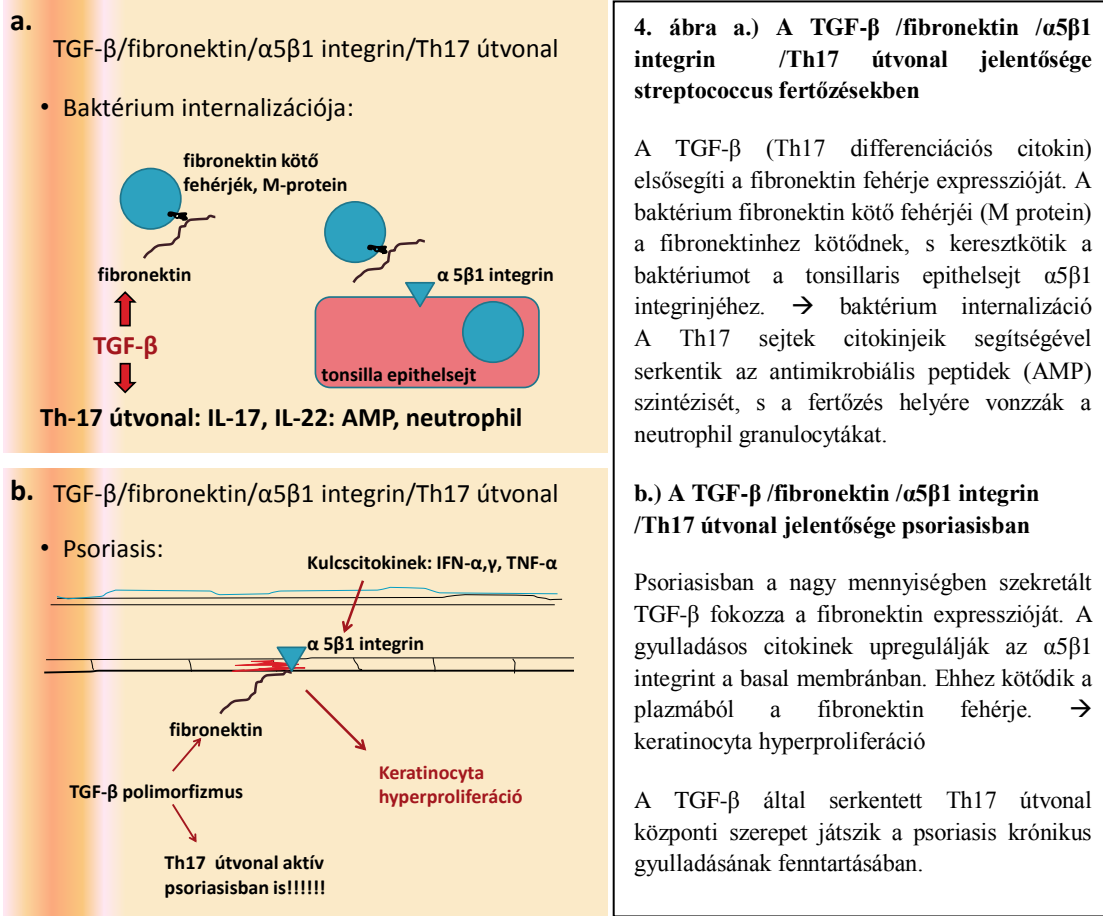
veleszületett immunválasz résztvevői. (52) Psoriasisos betegekől származó, közös kultúrában tenyésztett keratinocyták és CLA+ memória T-lymphocyták aktivációját, számos Th1, Th17 és Th22 citokin és több epidermális kemokinmolekula upregulációját figyelték meg Streptococcus-kivonat hozzáadása után; szemben a CLA- memória sejtekkel, valamint az egészséges kontrolloktól származó sejt kultúrákkal. Az eredmények in vivo jelentőségét igazolandó, hogy az aktivált CLA+ T-sejtek és keratinocyták felülűszója egér bőrbe injektálva epidermális hyperplasiát indukált. (53)

Az elmúlt években egyre nagyobb figyelem irányult a fertőzések –azon belül is elsősorban a Streptococcus-infekciók–, a fő rizikóhordozó gének és a psoriasis pathomechanizmusának komplex összefüggésére. Az e téren születő adatok tovább erősítik a CLA+ T-sejtcsoport szelektív pathogenetikai érintettségét. Guttált psoriasisnál 1916-ban írtak le először asszociációt megelőző felső légúti Streptococcus pyogenes fertőzéssel (54), s ebben a megjelenési formában az infekció provokáló szerepe általánosan elfogadott, klinikailag alátámasztott tényvé vált. (55, 56, 57) Ma már azonban úgy tartják, hogy az I-es típusú krónikus, plakkos psoriasis akut exacerbatioi szintén kapcsolatba hozhatók az A csoportú β -hemolizáló Streptococcus-tonsillitis és a gyakori HLA-C α 6 allél együttesével. (58) Molekuláris, illetve sejtszinten a folyamat nagy valószínűséggel az alábbi lépésekből áll: Tonsillitis során a baktériális peptidantigének által aktivált T-sejt klónok bizonyos hányada bőrspecifikus markermintázattal jelölődik. (59) Az infekció által generált citokinok és a bakteriális szuperantigének hatására a T-sejtek membránjában kifejeződik a CLA. (59, 60) Tonsillectomián átesett, psoriasis vulgarisban szenvedő betegek tonsilláris szövetében a T-lymphocyták 4-5%-a (59), míg palmoplantaris pustulosis esetén 7,9-18,9%-a bizonyult CLA pozitívnak (61). Ugyanazon T-sejt klónokat mutatták ki a psoriasisos plakkok területén, mint a tonsillából izolált CLA+ T-sejt populációban. (59) Ez alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a tonsilláris infekcióban keletkező T-lymphocyták egy része a bőrbe vándorol, a keringéssel érkező, Streptococcus-antigéneket szállító macrophágok hatására a bőrben ismételten aktiválódik, és klonális expanziót mutat. (20, 59, 62, 63) Mivel a fertőzés lezajlásával a bakteriális peptidfragmensek is eliminálódnak, a plakkos psoriasis lézióinak tartós fennmaradását ez a folyamat önmagában még nem magyarázta. A hiányzó lépés kérdésére a molekuláris mimikri jelensége adta meg a választ. A hámsejtek citoskeletális fehérjéi közül elsősorban a

psoriasisban nagy mennyiségben expresszálódó keratin 17 molekula és a streptococcalis virulenciafaktor, az M-protein között detektáltak jelentős szekvencia homológiát. (64) Vagyis a kezdetben kórokozó ellen irányuló immunválasz fordul a saját szervezetet károsító inflammatorikus reakciósorozatba, hasonlóan a klasszikus autoimmun kórképekhez. Itt azonban a T-sejtek érintettsége figyelhető meg; az I-es típusú plakkos psoriasisban szenvedő betegek 90%-ában jelenlévő HLA-Cw6 jelentőségét pedig épp az adja, hogy az antigénprezentációban kulcsfontosságú MHC-I molekulaként a CD8+ T-lymphocytáknak preferenciálisan mutatja be a bakteriális fehérjékben és a humán keratinmolekulákban közös peptidszakaszokat. Egy vizsgálatban a keringő CD8+ T-sejtek döntő többsége (>90%-a), mely aktiválódott és jelentős mennyiségű IFN- γ -t termelt az átfedő peptidmolekula-egységek hatására, a CLA+ lymphocytá populációhoz tartozott. (65)

A lymphocyták migrációja az érintett perifériás szövetbe minden gyulladásos kórfolyamatban felgyorsul, intenzívebbé válik. (26) Az érrendszer psoriasisban leírt típusos változása, a jellegzetes citokin milieu, illetve a kulcsfontosságú kemokinreceptorok és kemokinek (pl. CCL17, CCL22, CCL27), valamint a lymphocytá és az endothel felszíni adhéziós molekulák következményes upregulációja mind a T-sejt kiáramlást támogatja. (29, 37, 66) A psoriasisos szövettani kép jól ismert eleme az angiogenesis. A manifeszt léziókban több olyan mediátor (VEGF, vascular endothelial growth factor; HIF, hypoxia-inducible factors; angiopoetinek; TNF- α ; IL-8; IL-17) felszaporodását írták le, melyek proangiogenetikus hatása jól ismert. A szuperficiális dermális mikrovaskulátúra artériás típusú kapilláriskacsai vénás típusúvá alakulnak, dilatálnak, elongálódnak. (8, 12, 21) A keratinocyták és egyéb immunsejtek által szekretált proinflammatorikus Th1 citokinek (TNF- α , IL-1, IL-6) egy sor, az extravasatióban domináns funkciót betöltő endotheliális adhéziós molekula (E-selectin, VCAM-1, ICAM-1) expresszálódását indukálják. (33) Az adhéziós molekulák felszaporodásával növekszik a vaszkuláris permeabilitás is. (21) Ezzel párhuzamosan az IL-12 mint a Th1 útvonal fő differenciációs citokinje stimulálja az érő T-lymphocyták CLA expresszióját. (26, 29) A vonatkozó irodalmi utalások szerint a Th17 sejtek bőrspecifikus migrációjában fontos szerepet játszik a keratinocyták által elválasztott CCL20 kemokinmolekula. (13) Emellett mindenképp megemlítendő, hogy az IL-12 és IL-23, a fő Th1 és Th17 differenciációs citokinek közös alegységének blokkolása

meggátolta az egészséges kontrollok perifériás vérében keringő mononukleáris sejtek aktiválódását és CLA upregulációját. (67) Érdekes továbbá az a tény is, hogy egy korábbi vizsgálatban a Th17 útvonal irányításában fontos citokinmolekulát, a TGF- β -t a CLA expresszió potens stimulálójaként azonosították. (68) Mindenesetre a T-sejt és az endothel felszíni adhéziós receptorok együttes felszaporodása megteremti a lehetőséget a pathogenezis egyik alappillérenek tekintett cutan lymphocytagyülem létrejöttéhez. A véráramból a dermisbe érkező T-sejtek egy csoportja, a CLA+CD8+CCR10+ T-sejtek az epidermisbe történő további migrációra specializálódtak. VLA-1 segítségével jutnak át a basal membránon, majd felszínükön lévő $\alpha E\beta 7$ integrinmolekulájukkal a keratinocyták membránjában található E-cadherinhez kötődnek, így tartósan az epidermisben maradnak és a hámsejtekkel közvetlen kontaktusban generálják a psoriasis inflammatorikus eseménysorát. (15, 29, 66) A psoriasisos plakkok területén nagy mennyiségben detektálható TGF- β citokin az $\alpha E\beta 7$ integrin átíródását serkenti. (26) Ugyanakkor figyelemreméltó, hogy a gyulladásoz kaszkád gátlására specializálódott Treg-sejtek nem expresszálnak az epidermális infiltrációhoz szükséges VLA-1 integrint, ami szintén a gyulladás elhúzódásához járulhat hozzá psoriasisban. (15) Az epidermisbe áramló T-sejtek (és dendritikus sejtek) a basal membrán, majd a keratinocyták közti desmosomák roncsolásával olyan addicionális stressz szignált jelentenek a hámsejtek számára, melynek hatására azok számos citokint (pl. TNF- α) választanak el, s így fokozzák az antigénprezentáló sejtek érését, további migrációját és összességében véve a pathológiás körfolyamat teljes kibontakozását. (16) Emellett a fenesztrált basal membránon keresztül a keringésből kiszűrődő fibronektin a psoriasisos plakkok citokin összetételének (TGF- β , TNF- α , IFN- α , IFN- γ) köszönhetően upregulálódott, keratinocytá felszíni $\alpha 5\beta 1$ integrinhez kötődik, hyperproliférációs szignált továbbítva a hámsejtek felé. (69) (4. ábra)



2.4.2 A CLA szerepe egyéb bőrbetegségekben

Az **atópiás dermatitis**, a psoriasis-hoz hasonlóan, a bőr krónikus, immunmediálta gyulladásával jellemzett kórkép; jóllehet pathomechanizmusában a psoriasis inflammatorikus eseménysorához képest számos különbséget azonosítottak. A közös jellemvonások közül abszolút fontosságú és kiemelendő a bőr szelektív infiltrációja a betegség manifesztálódásáért felelős, aktivált T-lymphocyták által. (70) Azonban az atópiás dermatitis kórfolyamatában a Th2 útvonala dominál. Több munkacsoport számolt be olyan vizsgálati eredményről, melyek nem csupán a CLA⁺ T-sejtek számbeli növekedését, hanem ezzel együtt alapvető funkcionális érintettségét is alátámasztották: Atópiás dermatitiszes betegek perifériás véréből izolált CD3+CD45RO⁺ memória T-sejtcsoporthoz háziporatka hatására az in vitro aktiváció és sejtproliferáció kialakulása a

CLA+ populációra szorítkozott. Emellett a betegek keringő CLA+ T-lymphocytái, ellentétben a nonatópiás egészséges kontrollokkal, megelőző antigén-stimuláció és aktiváció jeleit mutatták (kifejezett HLA-DR expresszió és a fő Th2 citokin, az IL-4 spontán termelése in vitro). (71) A Th2 citokinprofilnak megfelelően atópiás betegeknél szignifikánsan nagyobb számban találtak IL-4 és IL-13 szekretáló CD4+ és CD8+ T-lymphocytát a keringésben, mint egészséges kontrollok perifériás vérében. Ezeknek a sejteknek a többsége pedig a CLA+ lymphocytá alcsoportba tartozott. (72) A Th1-Th2 egyensúly eltolódásának egyik potenciális magyarázatául szolgálhat, hogy atópiás dermatitisben a CLA+ Th1 sejtek szelektíven fokozott in vivo apoptotikus készséget mutatnak. (73) Az immunmediálta gyulladásnak megfelelően számos kemokin (pl. CCL17, CCL22) is részt vesz az immunsejtek bőrspecifikus migrációjában. Az IL-31 citokinmolekuláról nemrégiben vált ismertté, hogy atópiás dermatitisben gyulladásos mediátorként fokozza mind a CCL17, mind a CCL22 keratinocyták általi elválasztását. Egy vizsgálatban szignifikánsan nagyobb IL-31 expressziót detektáltak a perifériás vérből izolált, aktivált CLA+CD45RO+ memória T-sejtcsoportban a CLA-populációhoz képest. (74) A FUT7+CLA+ keringő lymphocyták száma és a betegség súlyossága között észlelt korreláció hasznos lehet a relapszusok nyomon követésében és fellépésük predikciójában. (75) A CLA+ Th2 sejtek felszaporodása a keringésben és a tünetes bőrben elgondolkodtató, hiszen ismert, hogy az IL-12 mint fő Th1 differenciációs citokin serkenti, míg a Th2 út kulscitokinje, az IL-4 gátolja a CLA szintézisében kulcsfontosságú FUT7 enzim transzkripcióját. (38) Bár a szabályozás továbbra sem minden részletében ismert, kimutatták, hogy a CLA expresszió indukálásához szérumentes kultúrában a T-sejt receptoron keresztüli stimulálás önmagában is elegendő lehet, valamint, hogy szérumhozzáadás esetén az IL-12 képes indukálni a már differenciálódott Th2 lymphocyták CLA expresszióját is. Emellett érdekes megfigyelés, hogy IL-12 jelenlétében a Th2 sejtek citokinmintázata jelentősen megváltozik: A Th1 vonal citokin összetételére emlékeztetően szignifikánsan megemelkedik a szekretált IFN- γ szintje, és majdnem teljesen megszűnik az IL-4 termelése. Ugyanakkor más Th2 citokinek, mint pl. az IL-5 és az IL-13 szintje csak mérsékeltebb csökkenést mutat. (76) Ezzel párhuzamba állítható, hogy akut atópiás bőrléziókban elsődleges az IL-4 (és így a Th2 sejtek) jelenléte, míg a krónikusan fennálló léziók területén szignifikánsan csökken az IL-4, nő az IFN- γ (Th1 citokin)

mennyisége, és közel konstans szinten marad az IL-5 és az IL-13 (ún. Th0 fenotípus). (76, 77, 78) Mindezek alapján tehát feltételezhető, hogy krónikus lézióknál a többféle sejtcsoport által szekretált IL-12 fontos szerepet játszik a kórlefolyás során észlelt fenotípusváltásban. A Th1, Th2, Th0 és Treg-sejtek szimultán válaszkészsége az IL-12-re és CLA expressziójuk kollektív indukálhatósága egyben azt is megerősíti, hogy a bőrspecifikus migráció mégsem egyetlen meghatározott fenotípusú és funkciójú T-lymphocytá populáció sajátja, és emellett utal az imprinting mechanizmusának rendkívül összetett szabályozására. (76) A bőrmanifesztációval megegyezően akut atópiás dermatitis esetén a perifériás vérben is a Th2 citokinek dominanciáját találták, míg a krónikus formában a Th0 fenotípusnak megfelelően megszűnt az említett citokinek fokozott expressziója, s gyakorlatilag a többi szintjében sem történt jelentős változás. (79) A Th2 sejtek CLA expressziójának serkentésében és így az atópiás dermatitis pathogenezisében a bakteriális szuperantigének jelentősége sem elhanyagolható, melyek hatásmechanizmusát szintén szoros összefüggésbe hozzák az IL-12-vel. (76, 80, 81) Bár kevesebb adatot találunk róla az irodalomban, de **allergiás contact dermatitis** kapcsán hasonlóan igazolták a CLA+CD45RO+ memória T-sejtek pathogenetikai szerepét, hiszen csak ez a sejtpopuláció mutatott fokozott aktivációs és proliferációs készséget a megfelelő allergén általi stimuláció hatására. (71, 82, 83) Ezzel egybehangzóan a klinikai tünetek allergénexpozíciót követő fellángolása maga után vont a perifériás vér CLA+CD45RO+CD3+ és azon belül is CLA+CD45RO+CD8+ memória T-sejtcsoportjának szignifikáns számbeli csökkenését, mely jelenség ezen sejtek bőrbe történő migrációjára és a kórfolyamatban nyilvánvaló fontosságára mutat rá. (84)

Míg a bőr krónikus gyulladással járó megbetegedéseiben a CLA és a CLA+ T-sejtek funkciója nagyjából egyértelműen definiálható, addig a cutan malignitások területén lényegesen változatosabb és összetettebb képpel találkozunk. Az 1960-as évek végén mutatták ki először **malignus melanomában** a tumort infiltráló lymphocyták jelenlétét. (85) Sokáig úgy vélték, hogy ezeknek a sejteknek a szervezet daganat- és szövetspecifikus immunológiai válaszreakciójában kizárólag antitumor hatása van, ugyanis mennyiségük és a betegség kimenetele között több vizsgálat talált korrelációt. (86, 87, 88, 89) Ma már tudjuk, hogy a tumort infiltráló immunsejtek heterogén csoportjában a többféle fenotípusú, reaktív lymphocyták mellett a tumor által propagált

és a hatékony immunválaszt gátló Treg-sejtek is nagy számban képviseltetik magukat. (90, 91) Mindenesetre, a funkciótól független közös jellemvonás, hogy ezeket a sejteket sejtfelszíni adhéziós molekulájuk, a CLA és bizonyos kemokinreceptorok szinkron expressziója bőr- és egyben tumorspecifikus homingra programozza. A primer tumor mikroereinek mérsékelt E-selectin expressziója lehetővé teszi a CLA+ lymphocyták konstans extravasációját (92, 93), míg a metasztázisokban észlelt nagyfokú adhéziós molekula (E/P-selectin, ICAM-1, VCAM-1) downreguláció a reaktív lymphocyták migrációjának akadályozásával potenciális magyarázatot nyújt a tumor rohamos kiterjedésére. (94, 95, 96, 97) Az a tény, hogy a CLA+ T-lymphocyták hiányát nemcsak egyéb szervekben kialakuló áttéteknél, hanem cutan metasztázisokban is detektálni lehet, egy másik, szintén figyelemreméltó, addicionális hipotézissel is értelmezhető. E szerint csak a primer tumorban valósul meg a daganatsejtek epidermális inváziója. Az epidermis érintettsége pedig azért meghatározó, mert egy reaktív gyulladásos állapotot indukál, s a keratinocyták proinflammatorikus citokinek (TNF- α , IL-1) elválasztásával fokozzák a mikroerek E-selectin expresszióját, és serkentik a tumorspecifikus CLA+ reaktív T-sejtek kiáramlását. (98, 99) Ezzel párhuzamosan egy vizsgálatban a metasztázisokba vándorló T-lymphocytákon nem találtak bőrspecifikus homing markereket. (94) Az előrehaladott melanomához hasonlóan a bőr rosszindulatú epitheliális tumoraiban, így **spinaliomában** és **basaliomában** egyaránt kimutatták az érfali endothel adhéziós molekuláinak kifejezett csökkenését, ami szintúgy a CLA+ tumorelles T-sejtek elégtelen aktivitását és a tumor manifesztálódását, növekedését eredményezi. (100, 101, 102) Egy munkacsoport vizsgálati anyaga szerint a spinaliomát infiltráló T-lymphocyták >50%-a Treg-sejt, melyek érdekes módon a T_{cm} fenotípushoz hasonlatosak, s ennek megfelelően bőrspecifikus molekulák (CLA és CCR4) helyett elsősorban nyirokcsomó homing markereket expresszálnak. (100) Ezeknek a regulátoros sejteknek a bőrbe történő migrációjához tehát feltételezhetően a tumorsejtek által szekretált, speciális kemokinek jelenléte az, ami mindenképp nélkülözhetetlen. (90, 103) A basalioma tumorsejtjeinek felszínén gyakorta található HLA-I molekulák, ami alapvetően a daganatsejtek immunogenitását támasztja alá. (104) A tumort infiltráló lymphocyták jelentőségének felismerése ennél a daganattípusnál elsősorban az immunmoduláns hatású imiquimod alkalmazásának köszönhető, mely számos proinflammatorikus citokin közvetítésével serkenti az adhéziós molekulák endotheliális

expresszióját és a CLA+ reaktív T-sejtek kiáramlását a tumor területére. (101, 105) **Primer cutan T-sejtes lymphomákban** a bőrbe szelektíven kilépő T-sejtek egy része továbbra is reaktív, tumornövekedést gátló hatású, ám maguk a daganatsejtek is T-lymphocyták. Az epidermotrop variánsok, így a *mycosis fungoides* (MF) és a *Sézary-szindróma* (SS) pathogenezisük megannyi közös vonása ellenére meglehetősen különböző klinikai képpel és betegségfolyással jellemezhetők. Az elmúlt évek meglepő felismerése, hogy mindez nagy valószínűséggel a tumorsejtek eltérő eredetének, a közel sem azonos homing sajátosságokat prezentáló T-sejtvonalak érintettségének tulajdonítható. (106) MF-ben a plakkok hosszú időn keresztül észlelhető stabilitása, fix bőrlokalizációja és az összességében véve kedvező prognózis a felszíni homing markerek típusos kombinációjával együtt alátámasztja a Tem sejtek malignus elfajulásának elméletét. A MF bőrt infiltráló malignus lymphocytái a Tem sejtekre jellemzően nagy mennyiségben expresszálnak bőrspecifikus homing molekulákat (CLA, CCR4), míg membránjukból hiányoznak a nyirokcsomó migrációt biztosító L-selectin és CCR7 molekulák. (106, 107, 108) Progresszió során azonban megszűnik a bőr egyedüli involvációja, a daganatsejtek elveszítik szelektív bőrmigrációs készségüket, és felszínükön upregulálódik a CCR7. (99) Ezzel szemben SS-ban a keringő tumorsejtek a Tcm csoportból kerülnek ki, ennek megfelelő markermintázattal (sok CCR7, L-selectin, a bőrspecifikus molekulák közül pedig jelentős mennyiségű CCR4, de változó mértékű CLA, CCR6 és CCR10 expresszió). A Tcm sejtek migrációs tulajdonságai megmagyarázzák a tumorsejtek szimultán megjelenését a perifériás vérben, a nyirokcsomókban és a bőrben, valamint a következményes klinikai képet és a kórképre jellemző, általában igen kedvezőtlen kimenetelt. (106) A bőrt infiltráló malignus T-sejtek döntő többsége SS-ban is kifejezett CLA és CCR4 pozitivitást mutat, jelezve ezen molekulák szükségességét a zavartalanul lezajló bőrhoming folyamatához. (106, 109) Több vizsgálat alapján a SS-ás betegek vérében keringő CLA+ tumorsejtek száma korrelál a bőrtünetek kiterjedtségével, s így megbízhatóan tükrözi a betegség előrehaladottságának, súlyosságának mértékét. (110, 111) Összességében véve elmondható, hogy a homing mechanizmus részleteinek megismerése abszolút jelentőséggel bír a cutan malignitások esetében is, hiszen a célzott immunterápiák a reaktív immunsejtek tumor- és bőrspecifikus migrációjának elősegítésével, illetve a

lymphoid tumorsejtek extravasációjának gátlásával új távlatokat nyithatnak a rosszindulatú bőrtumzorok kezelésében.

A melanocyták autoimmun destrukciójával jellemzett **vitiligo** pathomechanizmusának alapjaként a CD8+ cytotoxikus T-lymphocyták típusos melanocyt-fehérjék ellen aktiválódnak, és ennek megfelelően a bőrbe vándorolva melanocyt-specifikus sejtpusztító immunválaszt biztosítanak. Pathogenetikai szerepüket támasztja alá az a megfigyelés is, miszerint melanomás betegeknél spontán vitiligo megjelenése a daganat jobb prognózist vetíti elő. Az egyre növekvő maculák széli részében nagy számban találtak CLA+CD8+ T-sejtet, és hasonlóképp, vitiligos betegek perifériás vérében a nagy mennyiségű, MelanA-specifikus cytotoxikus T-lymphocyták jelentős hányada expresszált sejtmembránjában CLA-t. (112) Érdekes módon egy másik vizsgálat szerint egészséges kontrollokhöz képest kezeletlen vitiligos betegek vérében lényegesen kevesebb, bár szignifikánsan intenzívebb CLA-expressziót mutató cytotoxikus CD8+ T-sejt kering, ami azonban csupán arra utalhat, hogy ezeknek a sejteknek a többsége már a bőrbe került, és ott fejti ki hatását. (113) **Szisztémás sclerosisban** a korai és tipikus tünetként jelentkező dermális fibrosist összefüggésbe hozták a periférián felszaporodó, bőrspecifikus markereket expresszálo és IL-13-at szekretáló CD8+ cytotoxikus T-sejtekkel, amik a betegség kezdeti fázisában a bőrbe jutva tömeges IL-13 elválasztásukkal iniciálják a fibroblastok kóros működését. (114) Egy nemrégiben publikált tanulmány szerint allogén őssejt-transzplantációt követően a bőrre lokalizálódó akut **graft-versus-host betegség** fellépésének valószínűsége annál inkább csökken, és az esetlegesen kialakuló tünetek súlyossága pedig annál mérsékeltebb marad, minél nagyobb a periférián keringő, bőrbe vándorló és a pathológiás immunválaszt erélyesen gátló CLA+ Treg-sejtek száma. (115) Ennek megfelelően, nagyobb beteganyagot vizsgálva a munkacsoport később rámutatott az érintett sejtpopuláció prognosztikai faktorként történő értékelhetőségének realitására. (116) A kórkép manifesztálódásáért felelős T-lymphocyták természetesen szintén CLA pozitívak. (37)

2.5. A CLA expressziójának változása psoriasis egyéb szisztémás kezelési formáinak hatására

2.5.1. Fényterápia

Az UV-sugárzás vitathatatlanul jótékony hatást fejt ki psoriasisban, s bár a jelenséget sokáig csupán tapasztalati tényként fogadták el, mára egyre több aspektusát ismerjük meg az UV-fény összetett immunmoduláns effektusának. Számos vizsgálat egybehangzó eredménye alapján az inflammatorikus kaszkárendszerben bekövetkező változások közül alapvető fontosságú a patogén T-lymphocyták csökkent extravasatiós készsége a gyulladáshoz vezető területre. A gátolt homing folyamat egyik biztosítéka az adhéziós molekulák (E-selectin, VCAM-1, ICAM-1) downregulációja a cutan mikrovaskulátúra endothelrétegén. (117, 118) Másfelől UVB-fényterápia első két hetében a klinikai kép javulásával párhuzamosan a periférián keringő T-sejtek CLA és VLA-4 expressziójának jelentős csökkenését mutatták ki. (119) Ugyanakkor napfény hatására szignifikáns mértékben megfogyatkoztak maguk a vérben keringő CLA+CD4+ és CLA+CD8+ T-lymphocyták is. (120) Tehát psoriasis kezelése során az UV-sugárzás által indukált bőrrezidens T-sejt populáció depléciója jelentős részben a mérséklődő T-sejt kiáramlásnak, részben pedig az in vivo fokozott apoptózisnak köszönhető. (119, 121) Mivel a citokinek a CLA kifejeződésének nélkülözhetetlen regulátorai, joggal fogalmazódott meg a kérdés, hogy a fény CLA expressziót befolyásoló hatása vajon a típusos citokinösszetétel modulálásán keresztül valósul-e meg. A kérdés megválaszolására kivitelezett tanulmány adatai szerint fénykezelés hatására a perifériás vérből izolált mononukleáris sejtek citokinszekréciója szuperantigén-stimuláció mellett megváltozott: szignifikánsan emelkedett az antiinflammatorikus IL-10 szintje, míg sok proinflammatorikus citokin (pl. IL-1, IL-6, IFN- γ , IL-12) mennyisége jelentős mértékben csökkent. Vagyis az apoptózist valamilyen úton elkerülő T-lymphocyták citokintermelése módosul, és az antigénprezentáló sejtekkel a bőrt elvezető nyirokcsomókba vándorolnak. Ott együttesen hozzájárulnak az új citokinkörnyezet kialakulásához, ami egyértelműen kihatással lehet a lymphocyták aktiválódására és

migrációs tulajdonságaira. (121) Az UV-sugárzás nagy valószínűséggel az immuninhibitoros funkciójú Treg-sejtek homing sajátosságait is befolyásolja, ám a szabályozás részletei még azonosításra várnak. Mindenesetre a psoriasis modellezésére szolgáló K5.hTGFβ1 transzgenikus egér nyirokcsomóiban PUVA terápiát követően szignifikánsan emelkedett a CLA+CD25+CD4+ Treg-sejtek száma, és a fénykezelt bőrben is nagyobb mennyiségben képviselték magukat. Ebből a megfigyelésből arra a feltevésre jutottak, hogy a PUVA kezelés aktiválja a bőrben található Treg-sejteket, melyek a nyirokcsomókba migrálnak, érési folyamaton mennek keresztül, s ennek következtében visszakerülnek a bőrbe, ahol a gyulladásos sejtek gátlásával hozzájárulnak a fény gyulladáscsökkentő hatásához. (122) Szinkron balneophototerápia kapcsán a CLA prediktív markerként történő alkalmazhatóságáról is beszámoltak: A kezelés alatt és az utánkövetéses periódusban a kezelésre tartósan jól reagáló páciensek perifériás mononukleáris sejt CLA expressziója szignifikánsan csökkent. Ugyanakkor a visszaeső betegcsoportban felmerült a pathogén T-sejtek valamely fenntartó stimulus általi állandó utánpótlása, a gátolt homing mechanizmust kiegészítően, hiszen ezeknél a betegeknel a kezelés során szignifikánsan emelkedő CLA tendenciát találtak. Az utánkövetés alatt azonban már szignifikáns CLA csökkenés mutatkozott, ami a pathogén CLA+ T-sejtek bőrbe történő rohamos extravasációját feltételezve előrevetítette a tünetek exacerbációját. (123)

2.5.2. Methotrexate

A methotrexate hatóanyagú készítmények citosztatikumként kerültek bevezetésre sokféle daganattípus kezelésében. Antiinflammatorikus dózisban adva azonban eredményesen alkalmazhatók krónikus immunmediálta gyulladásokban, így psoriasisban is. A methotrexate alapvető hatása, hogy a dihidrofolát-reduktáz enzim inhibitoraként gátolja a purin és pirimidin bázisok szintézisét. Másrésztől egyes funkciói a purin metabolizmusban fontos enzimek gátlásához, s a következményes extracelluláris adenzin-akkumulációhoz köthetők. A hatásmechanizmusban feltételezik a proinflammatorikus citokinek csökkenő szekrécióját, míg az *in vivo*

apoptózisindukciót egyelőre nem sikerült bizonyítani. (124, 125) Több vizsgálat eredménye alapján a gyulladás csillapításában mindenképp fontos szerepet játszik az immunsejtek gátolt migrációja a gyulladt szövetekbe. Rheumatoid arthritisben az endotheliális adhézios molekula E-selectin és VCAM-1 downregulációját detektálták. (126) Psoriasis methotrexate kezelése során a keringő és a bőrben található CLA+ T-sejtek száma dózis-dependens módon csökkent a klinikai állapot javulását tükröző PASI (psoriasis area and severity index) értékekkel párhuzamban. Ezzel egybehangzóan maga a CLA és az endotheliális E-selectin expressziója is szignifikánsan mérséklődött. (124) In vitro körülmények között a methotrexate direkt szuppresszoros hatást gyakorol az antigénstimulált T-sejtek CLA expressziójára, ami adenzin-independens folyamatnak bizonyult, és vélhetőleg a PSGL-1 csökkent hozzáférhetőségével, valamint a dihidrofolát-reduktáz gátlásán keresztül a molekula elégtelen glikozilációjával valósul meg. (125) Methotrexate és cyclosporin összehasonlításakor a betegség aktivitását illetően mindkét kezelés eredményesnek bizonyult 12 hét után, ám csak methotrexate adására redukálódott a perifériás CLA+ T-sejtek száma. (127)

2.6. A célzott immunterápiás lehetőségek jelentősége psoriasisban

Az 1970-es évek elején a methotrexate bevezetése a psoriasis kezelésében új, szisztémás terápiás módszerek (fényterápia, retinoidok, cyclosporin A) egész sorát nyitotta meg, melyek összességében véve komoly előrelépést tettek lehetővé a krónikus, akkor még tisztán bőrbetegségnek tartott kórképből szenvedő betegek hosszú távú ellátásában. Ugyanakkor alkalmazásuk során több olyan hátrányuk is egyértelművé vált (pl. a nem meggyőző hatékonyság, a kezelés kivitelezéséből adódó kényelmetlenségek a betegek számára, a gyakori monitorozás szükségessége és mindenekelőtt a súlyos mellékhatások, a kumulatív dózisokból eredő szöveti toxicitás), melyek együttese erősen limitálja a fenntartó kezelés lehetséges időtartamát.

A psoriasisos betegek gondozásában, a betegség tartós tünetmentesítésében a biológiai válaszmódosító kezelések vitathatatlan mérföldkövet jelentenek. A psoriasisban bevezetett biologikumok biotechnológiával előállított makromolekulák, monoklonális antitestek vagy fúziós fehérjék. Tervezhetőségüknek és alkalmazhatóságuknak fontos követelménye a pathogenezis molekuláris mechanizmusainak egyre mélyebb szintű megértése, aminek az elmúlt 30 évben valóban tanúi lehettünk. Valamennyi korábbi terapeutikumhoz képest a biológiai szerek közelítik meg leginkább az ideális gyógyszer fogalmát, melyet egy krónikus, fizikai és pszichés terhet is jelentő, összetett immunpathomechanizmusú kórkép esetében, mint a psoriasis, a következőképp definiáltak: Legyen hatékony monoterápiás formában, hatása gyorsan jelentkezzen és tartósan fennmaradjon. Célpontja legyen valamely meghatározott, a pathogenezisben kulcsfontosságú sejtcsoport vagy molekula, hiszen a szelektív immuninhibitoros funkció a gyulladás és az immunrendszer általános blokkolásával ellentétben jóval kevesebb mellékhatást eredményez. Legyen továbbá biztonságos hosszantartó adagolás mellett is, elkerülve a krónikus szervkárosodások kialakulását. Legyen könnyen használható és amennyire csak lehetséges, kényelmes a betegek számára. Végetetül legyen költséghatékony és hozzáférhető a betegek széles körében. A célzott immunterápia, a potenciális mellékhatásokat is szem előtt tartva, alapvetően biztonságos kezelési módnak bizonyult, ezt az elmúlt jó néhány év klinikai tapasztalata egyértelműen megerősíti. Ugyanakkor nem hagyható figyelmen kívül az a tény, hogy bár a rövidtávú hatékonyság szinte kifogástalannak tekinthető, a huzamosabb ideig zajló kezeléseknél számolnunk kell a gyógyszerelváltás szükségességét eredményező terápiás hatásvesztés kialakulásával. Ha ehhez hozzátesszük még a biológiai terápiák óriási összegeket prezentáló költségességét, mely a legnagyobb akadályt képezi a kezelés általános elérhetőségében, magától értetődővé válik a biológiai válaszmódosítók hosszú távú sikerességét előre vetíteni hivatott, prediktív biomarkerek szükségességének racionális igénye. (128)

2.7. A Magyarországon forgalomban lévő biológiai terápiás vegyületek

2.7.1. A TNF- α gátlószerei

Az immunmediálta gyulladások, így a psoriasis kezelésében a TNF-alpha inhibitorok képezik az élvonalbeli szerek bázisát. Hatásosságukat és biztonságos alkalmazhatóságukat több multicentrikus, randomizált, kettősvak, placebo-kontrollált vizsgálat egyértelműen igazolta. (129) A hatásmechanizmus alapja a pathogenezis bizonyítottan meghatározó szerepet betöltő citokinmolekulájának (TNF- α) célzott blokkolása. Az EU-ban középsúlyos és súlyos psoriasis kezelési indikációjában engedélyezték azon betegeknél, akik egyéb szisztémás terápiás lehetőségekre nem kielégítő válasszal reagáltak, illetve akiknél ezek intolerábilisnak bizonyultak, vagy eleve kontraindikáltak voltak. Bevezetésük óta kivétel nélkül forgalomban vannak. (130)

2.7.1.1. Etanercept

Dimer fúziós fehérje, a humán II-es típusú TNF- α receptor (p75) extracelluláris ligandkötő doménjének és a szintén humán IgG1 immunglobulin konstans Fc-régiójának együttese alkotja. Dimerizált jellegéből adódóan nagy affinitással kötődik egyszerre két szabad vagy receptorához kapcsolódott szolubilis TNF- α molekulához a keringésben, s így gátolja a sejt felszíni TNF- α receptorokkal létrejövő interakciót. Sejtlízist nem okoz, és képes a TNF- β (limfotoxin) megkötésére is. Az EMA-engedélyt 2004 szeptemberében kapta meg psoriasis indikációban. Az indukciós fázisban (0-12. hét) ajánlott dózisa 2x50 mg hetente, subcutan injekció formájában. Ezt követően, amennyiben sikerült PASI75 (de minimum PASI50) választ elérni, akkor hetente 1x50 mg adandó a fenntartó kezelés keretén belül. Klinikailag szignifikánsnak értékelhető

válaszreakcióra 6-8 hét után számíthatunk, a PASI75 válasz elérése az indukciós fázis végére a betegek közel 49 százalékánál figyelhető meg.

2.7.1.2. Infliximab

Kiméra monoklonális antitest, mely egér eredetű, ám humán TNF- α -ra specifikus antigén felismerő Fab-régióból és humán IgG1 Fc-doménből áll. Nagyfokú specificitással és affinitással kötődik a TNF- α szolubilis és membránkött formájához egyaránt, azonban a TNF- β -hoz nem tud kapcsolódni. A TNF- α semlegesítése mellett a citokint termelő sejtekre citotoxikus hatást gyakorol. Az EMA 2005 szeptemberében engedélyezte psoriasisos betegek kezelésére. A terápia indukciós fázisában, a 0., 2. és 6. héten 5 mg/ttkg dózisban adott infúziót a fenntartó kezelés során minden 8. héten újabb infúzió adagolása követi. Szignifikáns javulás már 1-2 hét után várható, a PASI75 terápiás válasz kialakulása 10 hét után a betegek körülbelül 80%-ánál tapasztalható.

2.7.1.3. Adalimumab

Humán rekombináns, IgG1 nehéz és κ könnyűláncból felépülő monoklonális antitest, mely a szolubilis és membránkött TNF- α -t specifikusan és nagy affinitással köti meg, így gátolva kötődését mindkét sejt felszíni receptorához (p55, p75). Az infliximabhoz hasonlóan nem kapcsolódik TNF- β -hoz, és apoptózis indukáló hatása is ismert. Psoriasis kezelésére EMA-engedélyt 2007 decemberében kapott. Indukciós dózisa 80 mg, ami subcutan adandó a kezelés kezdetén egy alkalommal. Egy héttel később indítható a fenntartó kezelés, ami 40 mg subcutan injekció kéthetenként történő adagolását jelenti. A szignifikáns javulás átlagos várható ideje 4 hét, egy randomizált, kettős-vak, placebo kontrollált, multicentrikus vizsgálatban 16 hét alatt PASI75 klinikai választ a betegek mintegy 71%-a prezentált. (129, 130)

2.7.2. Az IL-12/IL-23 útvonal közös gátlószerei

2.7.2.1. Ustekinumab

Az IL-23 és a hozzá szorosan kötődő Th17 lymphocyták pathogenetikai jelentősége psoriasisban egyértelmű bizonyítást nyert az IL-12 és IL-23 útvonal együttes blokkolásának kimagasló terápiás sikere által. Az ustekinumab egy 100%-ban humán eredetű, rekombináns DNS-technológiával előállított, IgG1 monoklonális antitest, mely nagy specificitással és affinitással, szimultán kötődik az IL-12 és IL-23 citokinmolekulák közös p40 alegységéhez, mindkét citokin receptor-kötődésének következményes inhibícióját eredményezve. A már sejtfelszíni receptorhoz kötött citokinmolekulákhoz nem tud kapcsolódni, így feltehetőleg citotoxikus hatást sem mediál. Indikációja megegyezik a TNF- α gátlókéval, az ustekinumabot azonban egyelőre csak psoriasisos betegcsoport kezelésére engedélyezték (EMA-engedély: 2009. január), más immunmediálta gyulladásos kórképekben még nem alkalmazzák. A biztonságosságot és az effektivitást két randomizált, multicentrikus, kettősvak, placebo-kontrollos vizsgálat adatai támasztják alá. Ezen vizsgálatokban a kezelés 12. hetének végére a páciensek 66,4-75,7%-a érte el a PASI75 terápiás választ. Egy további, fázis III klinikai vizsgálat nagy dózisban adott etanercepttel összehasonlítva hatékonyabbnak értékelte az ustekinumabot 12 hetes terápiás periódusban. Kezdő dózisa 45 mg, subcutan injekció formájában, melyet 4 hét múlva, majd onnantól számítva 12 hetente újabb 45 mg-os adagok követnek. (100 kg-ot meghaladó testsúly felett 90 mg az alkalmazott dózis.) (131, 132, 133)

2.8. A célzott immunterápiák lehetséges mellékhatásai

A biológiai terápiák során potenciálisan fellépő adverz jelenségek ismerete nélkülözhetetlen a körültekintő, biztonságos alkalmazás megvalósításához. Ezen az ismereten alapszik jelentős részben a terápia megkezdésének kritériumrendszere, ahogy a kezelés alatti szükséges monitorozás, a kifejezett körültekintést igénylő csoportok és az esetleges ellenjavallatok egyértelmű definiálása is. A klinikai hatásvesztést követően a biológiai kezelések megszakításának második leggyakoribb okát képezik a nem kívánt mellékhatások, s így -a fentebb említettnek megfelelően- a finanszírozási szempontok mellett a terápiás kimenetel predikciójának szükségességét is nagymértékben magyarázzák.

A TNF- α gátlószerek lehetséges mellékhatásai az injekciót/infúziót követő azonnali vagy késői típusú, általános reakciók és lokális bőrtünetek. A helyi bőrtünetek az esetek döntő többségében enyhe lefolyást mutatnak, súlyosabb immunmediálta reakcióval, azonnali túlérzékenységen alapuló komolyabb allergiás jelenségekkel az intravénásan adagolt infliximab esetében találkozhatunk. (134, 135) Mivel a TNF- α a szervezet bakteriális és virális fertőzésekre adott immunológiai válaszreakciójában szerteágazó funkciói révén kulcsfontosságú szerepet tölt be, nem meglepő, hogy az alkalmazott készítménytől függetlenül, a TNF- α inhibitorok legjellemzőbb mellékhatása az infekciókra való fokozott hajlam. Ezen belül kiemelendők a bőr és a légutak olykor súlyos lefolyású fertőzései, valamint a csökkent granuloma formáció okán mindenekelőtt az intracelluláris kórokozók aktiválódása, a látens tuberkulózis fellángolásának lehetősége. (134, 136) A TNF- α nem egyértelműen azonosított szerepéből kifolyólag a vírusfertőzések közül fokozott figyelem irányul a hepatitis B, C és HIV fertőzött betegekre. A hepatitis B reaktiválódásának tapasztalt kockázata miatt a HBsAg hordozóknál kötelező a HBV ellenes kezelés/profilaxis és a rendszeres monitorozás. (137) Hazánkban az érvényben lévő S3 európai irányelvek alapján aktív hepatitis B infekció a TNF- α gátló kezelés abszolút kontraindikációját képezi. A HIV fertőzötteknél egyértelmű állásfoglalás nincs, ám az irodalmi ajánlások szerint megfelelő kontrollt biztosító antiretrovirális kezelés, kielégítő immunstátusz és szoros követés mellett a TNF- α gátló terápia indítása mérlegelhető. (138, 139) A TNF- α

gátlókkal asszociált rizikó a tumorképződés gyakoriságát illetően sok pontban vitatott kérdés. Az azonban elfogadott tény, hogy elsődlegesen a rosszindulatú hematológiai kórképek, illetve (főleg non-melanoma típusú) bőrmalignitások gyakoribb jelentkezésének esélye a terápia kapcsán nem zárható ki biztonsággal. A korrekt rizikóbecslést számos tényező nehezíti (pl. a betegség jellegéből, a korábbi kezelésmódok hatásából adódó eleve nagyobb kockázat, a klinikai tanulmányokba bevont betegek és a standard populáció összehasonlításából eredő tévedési lehetőségek), és éppen ebből a bizonytalanságból fakadóan a malignitások incidenciájának alapos nyomon követése mindenképp elvárt a biológiai terápiák alkalmazásakor. (130, 140)

Több, elsősorban citokin kölcsönhatásokat feltételező hipotézis is született azon jelenség magyarázatául, miszerint a kezelésben részesülő betegeknél nem egyszer az alapbetegség tüneteinek fellángolását, vagy nem psoriasis indikációval kezelt pácienseknél a psoriasis újonnan történő fellépését észlelték. (141, 142)

Az immunológiai háttérű adverz események körébe tartozik továbbá a drogindukálta autoantitestek megjelenése, mely elvértve valódi autoimmun kórkép manifesztálódásával járhat; valamint a neutralizáló antitestek formációja, melyek részben felelőssé tehetők a szekunder hatásvesztés és a fokozott immunogenitás kibontakozásáért. (143)

A cardiovascularis komplikációk közül kiemelendő a fennálló krónikus szívelégtelenség esetleges romlása, ennek köszönhetően az ez irányban folytatott monitorozás és a veszélyeztetett egyének kiszűrése abszolút fontossággal bír. A neuropszichiátriai szövődményeknél elsősorban a demyelinizációs kórképek (sclerosis multiplex, Guillain-Barré szindróma) kialakulására mutatott fokozott hajlamot írták le, ezeknek a megbetegedéseknek a kórtörténeten és klinikai vizsgálaton alapuló szűrése nélkülözhetetlen a terápia beállítása előtt. (130, 134)

Megfelelő számú adat hiányában a kezelés alatt célszerű hatékony fogamzásgátlásról gondoskodni, valamint a terápia iniciációját megelőzően terhesség fennállását kizárni. (130)

Hasonlóképpen, ustekinumab típusos mellékhatásai közé tartoznak a korai/késői reakción alapuló bőrtünetek, szórványosan súlyos kimenetelű túlérzékenységi reakciók, a fertőzések és az esetek kis százalékában ustekinumab ellenes antitestek detektálása, melyek jelenléte azonban nem jár bizonyítottan fokozott immunogenitással, és nem zárja ki egyértelműen a terápia hosszantartó eredményességét. Jóllehet az ok-okozati

összefüggés itt is óvatossággal megítélendő, a vizsgálatok beszámoltak malignus daaganatok kezelés alatti jelentkezéséről is. (132)

2.9. Psoriasis TNF- α gátló kezelésének potenciális prediktív markerei

A TNF- α gátlók számos területen történő bevezetésével párhuzamosan sokféle egyszerű **klínikai tényezőt** vizsgáltak a terápia sikerességének előrevetítését illetően. Így például negatív prediktív faktorként írták le többek között a kiindulási betegség súlyosságát (144, 145, 146), a fennállás időtartamát (147) vagy egy másik TNF- α gátló szerről történő váltás (elsősorban inefektivitás okán bekövetkező) szükségességét (148, 149, 145). Ugyanakkor nem hagyható figyelmen kívül, hogy az egyes vizsgálati eredmények meglehetősen változatos képet mutatnak, sok esetben nem bizonyultak szignifikánsnak, így ezeknek a klínikai változóknak inkább egyfajta moduláló szerepe valószínűsíthető.

A TNF- α inhibitorok gyulladáscsökkentő hatásának egyik feltételezett mechanizmusa psoriasisban az immuninhibitoros funkciójú **Treg-sejtek** modulálása. In vitro vizsgálatokban demonstrálták a TNF- α Treg-sejt funkcióra gyakorolt szuppresszív hatását. Ezzel párhuzamosan rheumatoid arthritisben és Crohn-betegségben infliximab adására a perifériás Treg-sejtek szignifikáns felszaporodását és funkcionális regenerációját detektálták. Quaglino és mtsai. a periférián keringő Treg-sejtek mennyiségi változását vizsgálták 15 közepesúlyos/súlyos psoriasisban és 15 arthritis psoriaticában szenvedő beteg biológiai terápiája során. A 6 hónapos vizsgálati periódusban 8 psoriasis vulgaris esetet leszámítva, ahol efalizumab került beállításra, a betegek TNF- α gátló (infiximab/etanercept) kezelésben részesültek. Szignifikáns asszociációt találtak a terápiás válaszkészség és a perifériás Treg-sejtek számbeli alakulása között: Azoknak a pácienseknek, akiknek keringő CD4+ T-sejt populációján belül a CD25+FoxP3+ Treg-sejtek upregulációját igazolták, 91,1%-a reagált minimum PASI75 klínikai válasszal a kezelésre. Ez az arány a változatlan vagy csökkenő Treg-sejtszámot prezentálóknál mindössze 27,3%-ra volt tehető. A Treg-sejtek mennyiségi

növekedésével szignifikánsan korrelált a FoxP3 molekula mRNS-ének expressziója. (150) Richetta és mtsai. hasonló megfigyelést tettek egy pilot study keretein belül, melyben kizárólag TNF- α gátlókat (infliximab, adalimumab, etanercept) alkalmaztak. Itt a Treg-sejtek upregulációja kivétel nélkül együtt járt a tünetek tartós javulásával, ahogy a konstans vagy csökkenő értékek is az elfogadható terápiás válasz hiányával. (151) Ezek az eredmények összhangban állnak az elsősorban egér modell kísérleteken alapuló hipotézissel, miszerint a psoriasis TNF- α inhibitorok adása során tapasztalt esetleges exacerbatioja vagy újonnan történő manifesztálódása a TNF- α diverz effektusának köszönhető genetikailag determinált egyéneknél. Ezeknél a betegeknek a TNF- α gátlása a várttal ellentétesen a perifériás Treg-sejtek downregulációját és károsodott működését eredményezi, melyek így nem képesek a gyulladás iniciálásáért és fenntartásáért felelős Th1 és Th17 lymphocyták blokkolására. (152)

Szolubilis biomarkerek esetleges prediktív jelentőségére arthritis psoriaticaban találunk irodalmi példát. Van Kuijk és mtsai. sikeres adalimumab terápia kapcsán demonstrálták mindössze négy hét után a csont- és porcmetabolizmusban szerepet játszó szolubilis biomarkerek szérumszintjének szignifikáns változását. A csont- és porcdegradációban érintett mátrix metalloproteináz-3 enzim mennyisége szignifikáns csökkenést, míg a chondrocyta anabolizmus és aktivitás markereként ismert, és a proinflammatorikus citokinek által szupprimált melanoma inhibitoros aktivitás (MIA) mennyisége szignifikáns növekedést mutatott. (153) Szintén arthritis psoriaticaban szenvedő betegcsoportnál készült egy átfogóbb vizsgálat, ahol a kiindulási CRP pozitívan, a betegek életkora és a BASFI (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index) kezelés előtti értéke pedig negatívan korrelált a 3. hónap végén megfigyelt klinikai állapotjavulás mértékével. (154) 24 hetes terápiás periódusban Campanati és mtsai. 22 etanercepttel kezelt betegnél írtak le asszociációt a klinikai javulást tükröző PASI pontértékek csökkenése és a CCR10+ memória T-sejtek háminvázióját biztosító **CCL27** kemokinmolekula epidermális expressziójának mérséklődése között. A bőr CCL27 intenzitásának csökkenésével párhuzamosan visszaállt a kemokin egészséges bőrre jellemző eloszlási mintázata is, a molekula elsődlegesen basalis keratinocytákban történő kifejeződését eredményezve. (155)

Genetikai prediktív marker lehetőségét vetítik fel Zaba és mtsai., akik 15 psoriasisos beteg bevonásával végzett vizsgálatukban csak a terápiára reagálóknál detektálták az IL-17 útvonal génjeinek szignifikáns downregulációját 12 hét etanercept terápiát követően. (156) Emellett több munkacsoport számolt be a pathogenezisben fontos fehérjéket kódoló gének (TNF- α ; IL-6; TNFAIP3, TNF- α induced protein 3) promóter polymorfizmusainak és a terápiás válaszkészség kialakulásának kapcsolatáról. (157, 158, 159)

Az alább ismertetett kutatási eredmények utalnak a prediktív markerek azonosításának szükségességére. Ugyanakkor több okra is visszavezethetően (pl. kis vizsgálati beteganyag, konfirmációs vizsgálatok hiánya, primer válaszkészség kizárólagos megfigyelése, a prediktív funkcióhoz képest olykor relatíve hosszú nyomon követési idő, az eljárás költséges/invazív volta) mind a mai napig hiányzik a klinikumban könnyen hozzáférhető, egyszerű, ám hiteles prediktív marker, mely a kiterjedt psoriasisos betegcsoportnál lenne hivatott a biológiai kezelés hosszú távú eredményességét előrevetíteni.

3. Célkitűzések

Saját kutatási munkánk során a psoriasis TNF- α gátló biológiai válaszmódosító kezeléseit középpontba állítva a medicina egy aktuális témakörét vizsgáltuk. A psoriasis az immunmediálta krónikus gyulladásokban sikerrel alkalmazott biológiai terápiás lehetőségeknek, így a TNF- α inhibitoroknak elsődleges alkalmazási területe a bőrgyógyászatban. A célzott immunterápiák vitathatatlanul forradalmasították kezelését, ám a bevezetőben foglaltaknak megfelelően a személyre szabott kezelések előtérbe kerülésével nő az igény a prediktív, illetve kezelések hatásosságát mérő markerek iránt. A tartós eredményesség predikciója mind a betegek biztonságát, mind a magas finanszírozási költségeket szem előtt tartva abszolút jelentőséggel bír.

Éppen ezért elsődleges célkitűzésünk volt, hogy megvizsgáljuk a hosszú távú klinikai válaszkészség előrevetítésének lehetőségeit. Az immun-pathomechanizmus mélyreható tanulmányozásával merült fel a CLA-nak mint a patogén T-lymphocyták bőrspecifikus homing markerének és így a pathogenezis egyik kulcsmolekulájának potenciális prediktív szerepe, melyről mindezidáig nem találtunk sem hazai, sem nemzetközi vizsgálati adatot. Munkánk során tehát összegyűjtöttünk minden rendelkezésre álló információt a CLA fiziológiás és pathogenetikai funkcióját illetően, majd a klinikán újonnan induló TNF- α gátló kezelésekre bevont betegeket választottuk be a megtervezett protokoll szerinti kutatási projektbe.

Az alábbi kérdésekre kerestünk választ:

1. Különbözik-e az egészséges, non-psoriasisos kontrollok és a psoriasisban szenvedő betegek kiindulási, TNF- α gátló kezelés előtti perifériás lymphocyt CLA expressziójának mértéke?
2. Van-e szignifikáns különbség a kezelésre tartósan jól reagáló és a későbbiekben visszaeső betegek kiindulási perifériás CLA expressziója között?

3. Megfigyelhető-e szignifikáns eltérés a két betegcsoport CLA expressziójának alakulása között a TNF- α gátló kezelés iniciációs fázisában (a terápia első 6 hetében)?
4. Korrelál-e a klinikai választ tükröző PASI változás az iniciációs periódus CLA expressziójának alakulásával?
5. Mindezek alapján lehet-e a terápia iniciációs periódusában nyomon követett perifériás lymphocytá CLA expresszió egy alkalmas prediktív biomarker súlyos psoriasisos betegek TNF- α gátló kezelésének várható eredményességére vonatkozóan?

4. Módszerek

4.1. Beteganyag

A vizsgálatban 38 krónikus, nagy plakkos psoriasisban szenvedő felnőtt beteg vett részt. A beválasztás egyetlen alapvető kritériuma volt a TNF- α gátló kezelés iniciációs feltételeinek történő megfelelés. Nemre, korra, a betegség fennállásának időtartamára, komorbiditások jelenlétére vagy hiányára, illetve a megelőző terápiás módszerekre vonatkozóan semmiféle megkötést nem fogalmaztunk meg. Nem szerinti megoszlást tekintve a betegpopulációt 29 férfi és 9 nő alkotta a véletlenszerű besorolás nyomán, átlag életkoruk 43,7 (20-68) év volt. Kontroll csoportunk létrehozása pedig további 5 egészséges, non-psoriasisos felnőtt egyén részvételével a kiindulási CLA expressziós értékek összehasonlításának célját szolgálta. A regionális etikai bizottság a vizsgálat kivitelezését engedélyezte (No. 78/2011). A munka során minden téren a Helsinkii deklaráció etikai alapelveinek megfelelően jártunk el. A pácienseket kellő alapossggal felvilágosítottuk a vizsgálat céljairól és a protokoll egymást követő lépéseiről. A tájékoztatást követően hivatalos beteg beleegyező nyilatkozatot írtak alá. A szakmai irányelveket követve elvégeztük az indikált kivizsgálásokat a TNF- α inhibitor terápia iniciálását megelőzően. Egyetlen esetben sem találtunk kontraindikációra utaló leletet, így az S3 európai konszenzus irányelvei szerint megindítottuk a biológiai válaszmódosító kezeléseket. 14 páciensnél infliximab, 10-nél adalimumab és a fennmaradó 14-nél pedig etanercept került bevezetésre monoterápiás formában.

4.2. A TNF- α gátló biológiai válaszmódosító kezelés alkalmazásának feltételei

Az érvényben lévő szakmai irányelveknek megfelelően, bőrgyógyász és reumatológus szakorvos együttes döntése alapján olyan középsúlyos-súlyos plakkos psoriasisos betegeknél került beállításra TNF- α gátló szer, akiknél legalább 3 hónapig tartó, megelőző, standard szisztémás kezelés (fényterápia, acitretin, methotrexate, cyclosporin) ellenére a PASI >15 vagy a DLQI >10 értéket mutatott, illetve akiknél az említett standard terápiák kontraindikáltak voltak vagy intolerábilisnak bizonyultak. A protokoll szerint elvégeztük a kezelés iniciálása előtt indokolt vizsgálatokat, illetve folyamatosan monitorizáltuk a szükséges paramétereket a terápiás ciklus alatt.

Kezelés előtti vizsgálatok:

- 1.a klinikai súlyosság objektív megítélése [PASI (Psoriasis Area and Severity Index) /BSA (Body Surface Area), arthritis]
- 2.DLQI (Dermatology Life Quality Index) életminőségi teszt felvétele
- 3.laborvizsgálat (teljes vérkép; süllyedés; CRP; májenzimek; vesefunkciós paraméterek; HBV, HCV, HIV szűrése; vizeletvizsgálat)
- 4.reumatológus konzílium (szükség esetén)
- 5.mellkasröntgen, Mantoux-próba, (esetenként QuantiFERON TB Gold teszt), pulmonológus konzílium
- 6.malignitások, súlyos fertőzések, súlyos szívelégtelenség, demyelinizációs neurológiai kórképek kizárása
- 7.terhesség szűrése, figyelemfelhívás fogamzásgátlás szükségességére

Kezelés alatti monitorozás:

1. a klinikai válaszkészség nyomon követése (PASI/BSA)
2. DLQI teszt
3. klinikai vizsgálat (malignitás, fertőzés, szívelégtelenség, neurológiai megbetegedés)
4. laborvizsgálat (a vírusfertőzések szűrését kivéve valamennyi paraméter ismételt ellenőrzése)
5. figyelemfelhívás fogamzásgátlásra

A kezelés abszolút kontraindikációi:

1. aktív tuberkulózis, egyéb súlyos aktív fertőzés
2. aktív krónikus hepatitis B fertőzés
3. súlyos szívelégtelenség (NYHA III-IV. stádium)
4. ismert demyelinizációs betegség
5. lymphoproliferatív kórkép vagy malignus szolid tumor (kivéve adekváтан kezelt, hám eredetű bőrtumorok) fennállása
6. az alkalmazott szer bármely összetevőjével szemben ismert túlérzékenység
7. terhesség vagy szoptatás

A kezelés relatív kontraindikációi:

1. élő vakcinák egyidejű alkalmazása
2. PUVA kezelések száma >200
3. hepatobiliaris rendellenességek, hepatitis C fertőzés

4.3. A TNF- α inhibitorok protokoll szerinti dozírozása

A gyógyszerek dozírozása az alkalmazási előiratuknak megfelelően történt. Etanerceptből az indukciós periódus 12 hetében 2x50 mg-ot, majd a fenntartó fázisban 1x50 mg-ot adtunk hetente subcutan formában. Az infliximab infúziók szokásos adagja az iniciációs fázis 0., 2., 6. hetében, majd 8 hetente ismételt 5 mg/kg volt. Az adalimumab egyszeri 80 mg-os indukciós dózist 1 hét múlva 40 mg, majd a fenntartó terápia során 2 hetente szintén 40 mg subcutan injekció követte.

4.4. A klinikai válaszkészség monitorozása

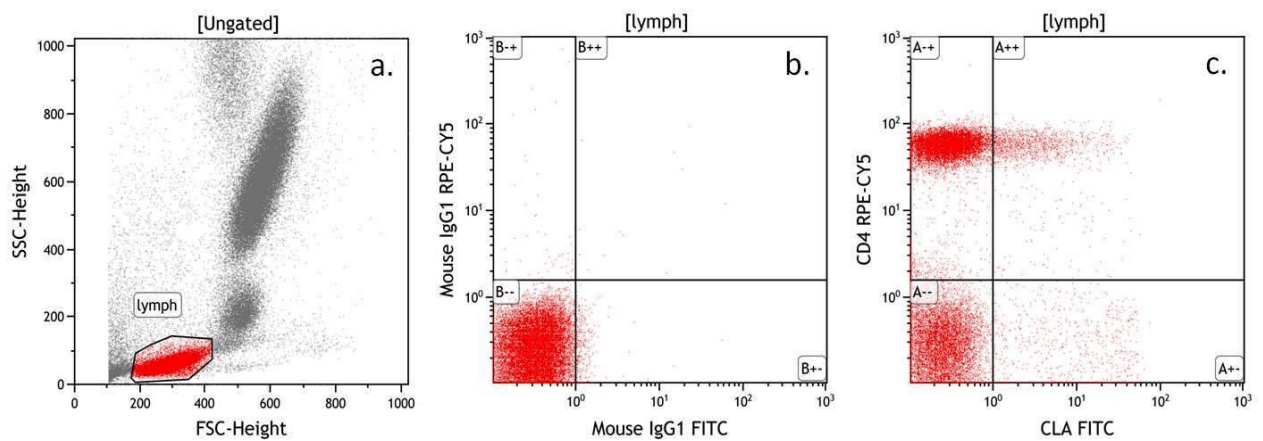
A betegek klinikai státuszának nyomon követésére és rögzítésére a PASI index mérőszámokat (Psoriasis Area and Severity Index) használtuk. A PASI indexet dokumentáltuk a terápia elkezdése előtt, majd a kezelés 12. és 24. hetének végén, a kezdeti és a hosszú távú válaszkészségre utalva. Az állapotfelmérést és ez alapján a PASI meghatározást valamennyi vizit alkalmával ugyanaz a kezelőorvos végezte. A terápia eredményességének megítélése a betegek állapotának individuális értékelésével történt, figyelembe véve a kiindulási képet, az ahhoz képest bekövetkező változást a 24 hetes terápiás periódus alatt és a mindezt számszerűen reprezentáló PASI értékek alakulását.

4.5. Az áramlási citometriai mérések, a CLA expresszió meghatározása

A CLA expressziós értékek detektálásához perifériás vérmintákat gyűjtöttünk a vizsgálati csoportoktól: a kontrolloktól egyszer, a betegektől pedig a kezelés indítását megelőzően, majd a terápia 2. és 6. hetének befejeztével. Az áramlási citometriai méréseket a friss perifériás vérmintákból nyert sejtszuspenziókon végeztük el. A vörösvértestek eliminálásához FACS Lysing Solution-t (PharMingen International, BD Biosciences, San Jose, CA, USA) használtunk. A sejtek fenotípus vizsgálatához hármas jelölést alkalmaztunk, az antitesteket fluoreszcein isothiocianáttal (FITC), phycoerythrinrel (RPE), illetve phycoerythrin-cyanin 5-tel (RPE-CY5) prekonjugált formában szereztük be. A CLA⁺ lymphocyták, illetve a CD4⁺ és CD8⁺ T-sejt populációk azonosítása a következő antitestek segítségével történt: anti-humán CLA (HECA 452, FITC; PharMingen International, BD Biosciences, San Jose, CA, USA); anti-humán CD4 (RPE-CY5; Dako, Glostrup, Dánia) és anti-humán CD8 (RPE; Dako, Glostrup, Dánia). Emellett az alkalmazott specifikus izotípus kontrollok az alábbi jelölt antitestek voltak: patkány IgM κ -FITC (PharMingen International, BD Biosciences, San Jose, CA, USA); egér IgG1 RPE (Dako, Glostrup, Dánia); egér IgG1 RPE-Cy5 (Dako, Glostrup, Dánia). Az antitesteket minden esetben pretitráltuk. A keringő lymphocyták CLA expresszióját asztali (bench-top) flow citométer rendszerrel (FACSCalibur, PharMingen International, BD Biosciences, San Jose, CA, USA) mértük, s az eredményeket CellQuest Pro programmal (PharMingen International, BD Biosciences, San Jose, CA, USA) értékeltük ki. A mérési küszöböt a mintáknál 100 ezer eseményre állítottuk be. Az egyes sejtpopulációk azonosítása típusos FSC-SSC dot plot grafikon segítségével történt. A citométeren áthaladó sejtre eső lézerefény előrefelé történő szóródása (FSC, forward scatter) a sejt méretéről, míg az oldalirányú szóródás (SSC, side scatter) a sejt méret mellett elsősorban a granuláltságról, a morfológiai sajátosságokról informált. A fluorokróm festékek használata a lézerefény által gerjesztett fluoreszcens fény detektálásához, s ezáltal a vizsgálni kívánt paraméterek analizálásához volt szükséges. A CLA expresszió meghatározásához a lymphocytá sejt populációra kapuztunk, majd a CLA⁺ lymphocyták számát hasonlítottuk a totál fehérvérsejt számhoz (CLA tot%) és a teljes lymphocytá mennyiséghez (CLA lymph%),

valamint a CLA+CD8+ és a CLA+CD4+ T-sejt alcsoportokat szintén a totál fehérvérsejt számhoz (CLA CD8+ Tlymph%, CLA CD4+ Tlymph%). A valós expressziós értékek nyeréséhez a leolvasott értékekből kivontuk a kontroll mérési adatokat. (5. ábra)

A CLA prediktív szerepének függetlenségét vizsgálandó, összehasonlítottunk a hosszantartó kezelésre eltérően reagáló két betegcsoportban néhány klinikai tényezőt, mely ismertén hatással lehet a TNF- α inhibitorok terápia sikerére, így a kiindulási betegség súlyosságát (kezdeti PASI), a betegség fennállásának időtartamát, ízületi érintettség meglétét, valamint TNF- α gátlók esetleges korábbi alkalmazásának a gyakoriságát.



5. ábra Az áramlási citometriai mérések hisztogramjai. **a.)** A lymphocyta populáció elkülönítése a sejtcsoportra történő kapuzással. A side scatter (SSC) a sejtek granuláltságára, míg a forward scatter (FSC) a sejtnagyságra utal. **b.)** A kapuzott populáción belül végzett izotípus kontroll mérések kétparaméteres dot plot grafikonja. (FITC és RPE-CY5 jelölt antitestekkel a CLA+CD4+ T-lymphocyták mennyiségének valós meghatározásához) **c.)** A CLA+CD4+ lymphocyták detektálásához szükséges mérés kétparaméteres hisztogramja. A CLA expresszió mértékét mutató FITC, valamint a CD4 mennyiségét reprezentáló RPE-CY5 festék jelintenzitását ábrázoltuk. A jobb felső kvadráns tartalmazza a meghatározni kívánt, kettőspozitív T-sejt csoportot.

4.5.1. Az áramlási citometriai mérés előkészületei, az immunfluoreszcens festés menetének összefoglalása

1. friss perifériás, alvadásgátolt, jól összerázott vérmintából 50 μ l teljes vért pipettázunk 12x75-ös kémcső aljára
2. hozzáadjuk a jelölt antitestek keverékét: 7 μ l konjugált anti-humán CLA (HECA 452, FITC); 2 μ l anti-humán CD8 (RPE); 1 μ l anti-humán CD4 (RPE-Cy5) (kontroll méréseknél a 3 fajta izotípus kontrollt adjuk hozzá)
3. összerázzuk, hűtőben 4°C-on inkubáljuk 15 percig
4. az inkubálást követően 1,5ml lizáló folyadékot (FACS Lysing Solution, BD Biosciences) adagolunk a csőbe, és összerázzuk a kémcső tartalmát
5. 10 perc inkubálás szobahőmérsékleten
6. 5 perc centrifugálás 1500 fordulattal (300xg) (Eppendorf 5702-es centrifuga)
7. a felülúszót leöntjük, majd 2ml PBS (Phosphate Buffered Saline, pH=7,2) oldatot adunk a kémcsőbe
8. ismét centrifugálás 5 percig 1500 fordulattal (300xg)
9. leöntést követően a mintát 250 μ l PBS oldatban vesszük fel
10. mérés asztali (bench-top) flow citométer rendszerrel (FACSCalibur, BD Biosciences)

4.6. Statisztikai analízis

A PASI és a CLA értékeket Student-féle kétmintás T-próbával és Wilcoxon-próbával (Wilcoxon matched pairs signed rank test), a Statistica 7.0 software-t (StatSoft, Inc., 1984-2004, Tulsa, USA) alkalmazva analizáltuk. A statisztikai szignifikancia határának az 5%-nál alacsonyabb p valószínűségi értéket ($p < 0,05$) tekintettük.

A hosszú távú terápiás válaszkészséget reprezentáló 12 és 24 hetes PASI érték különbségeket és a kapott CLA eredmények változásait (CLA 0. hét vs. 2. hét; CLA 0. hét vs. 6. hét; CLA 2. hét vs. 6. hét) Pearson-féle korreláció analízissel hasonlítottuk össze. A szignifikancia határa itt is $p < 0,05$ volt.

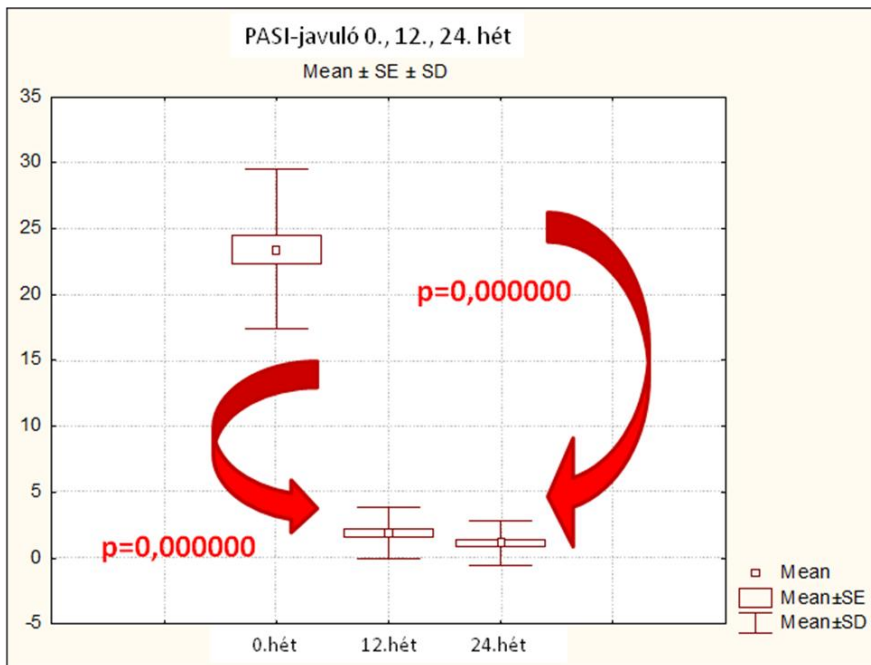
5. Eredmények

5.1. A klinikai válaszkészség alakulása

Mind a 38, vizsgálatba bevont betegnél a terápia megkezdése előtt a súlyos plakkos psoriasis klinikai képét láttuk, az ennek megfelelő magas PASI pontértékekkel. A teljes betegpopulációra vonatkozóan a kiindulási PASI átlagértéke 24,34 volt. A kezelés első 12 hetében, kivétel nélkül minden páciens esetében a bőrtünetek látványos javulását tapasztaltuk, s így a PASI értékek is szignifikánsan csökkentek. A jó hatásfokú primer terápiás válasz jelölőjeként valamennyien elérték a PASI75 klinikai választ, átlag 90%-os PASI javulást jegyeztünk fel. A hosszú távú válaszkészséget illetően a 24. hét végén 32 beteg a psoriasisos léziók tartós regresszióját prezentálta, a PASI75 fenntartásával és $1,14 \text{ SD} \pm 1,66$ PASI átlagértékkel. Őket soroltuk a „tartósan tünetmentes”, ún. „responder” csoportba. Közülük a 12. hét végéig PASI90-et elért betegek (20/32) ezt az eredményt fenntartották a 24. hét végéig, amikor is összesen 30/32 „responder” páciensnél találtunk PASI90 javulást. (1. táblázat, 6. ábra) Épp ellenkezőleg, a fennmaradó 6 betegnél a 12. és 24. vizsgálati hét között a bőrtünetek markáns fellángolását tapasztaltuk, a kezdeti nagy plakkok növekvő számának ismételt megjelenésével, a PASI75 elvesztésével és $13,10 \text{ SD} \pm 2,56$ átlag PASI-val. Ezek a „visszaeső”, ún. „relapsing” betegek a study 24. hetének végén az iniciális PASI átlagosan <60%-os „javulását” mutatták (<PASI60). (2. táblázat, 7. ábra)

1. táblázat A PASI értékek (klinikai válasz készség) alakulása a „responder” betegcsoportban. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye: a pirossal kiemelt p értékek a vizsgált időpontok közötti szignifikáns PASI változásokra utalnak)

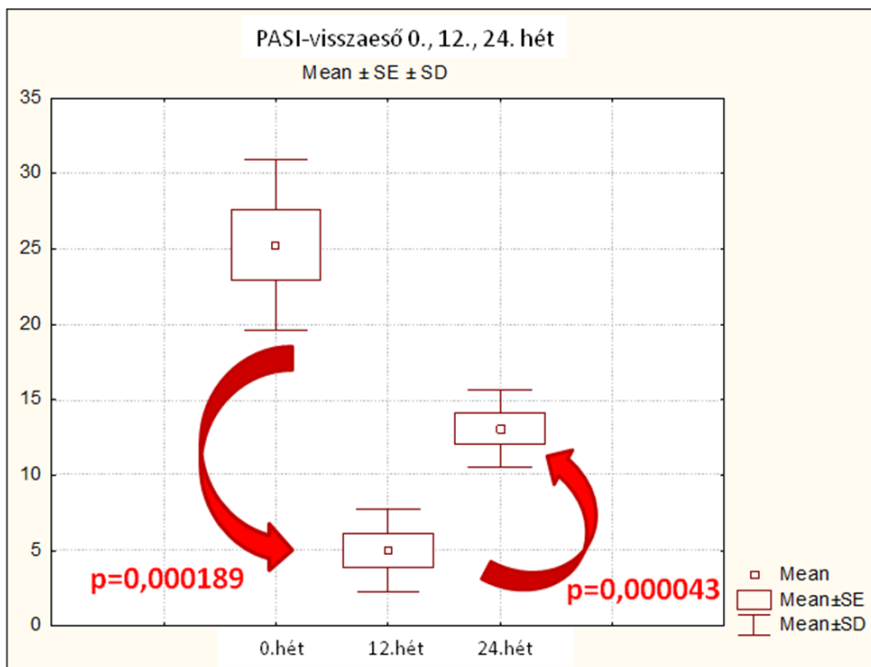
	Átlag	Standard Deviació	Minta-szám	Differencia	Standard Deviació	t érték	p érték
0. hét	23,41875	6,059460					
12. hét	1,90000	1,969280	32	21,51875	6,648863	18,30816	0,000000
0. hét	23,41875	6,059460					
24. hét	1,13750	1,664186	32	22,28125	6,223651	20,25207	0,000000
12. hét	1,900000	1,969280					
24. hét	1,137500	1,664186	32	0,762500	2,158666	1,998156	0,054537



6. ábra A PASI értékek (a klinikai válasz készség) alakulása a „responder” betegcsoportban. (Student-féle kétmintás T-próba p értékeivel) A kezelés 12. és 24. hete közötti csökkenés nem szignifikáns, de a PASI értékek tartósan alacsonyok maradnak.

2. táblázat A PASI értékek (klinikai válaszkészség) alakulása a „relapsing” betegcsoportban. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye: a pirossal kiemelt p értékek a vizsgált időpontok közti szignifikáns PASI változásokra utalnak)

	Átlag	Standard Deviació	Minta-szám	Differencia	Standard Deviació	t érték	p érték
0. hét	25,25000	5,685332					
12. hét	5,00000	2,768393	6	20,25000	5,063892	9,795266	0,000189
0. hét	25,25000	5,685332					
24. hét	13,10000	2,560469	6	12,15000	5,646503	5,270749	0,003270
12. hét	5,00000	2,768393					
24. hét	13,10000	2,560469	6	-8,10000	1,489966	-13,3163	0,000043



7. ábra A PASI értékek (a klinikai válaszkészség) alakulása a „relapsing” betegcsoportban. (Student-féle kétmintás T-próba p értékeivel) A 12. és 24. hét között a PASI értékek szignifikáns emelkedése látszik, a klinikai relapsusnak megfelelően.

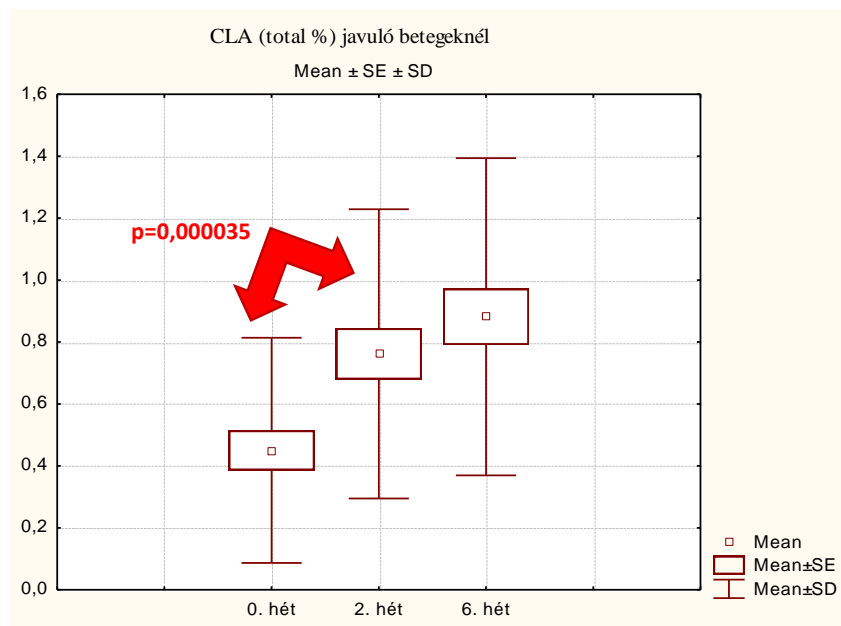
5.2. Az áramlási citometriával detektált CLA expresszió alakulása

Az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében az áramlási citometriával mért CLA expresszió növekvő tendenciát mutatott a „responder” betegcsoportban. Valamennyi számított expressziós érték (CLA tot%, CLA lymph%, CLA CD8+ Tlymph%, CLA CD4+ Tlymph%) szignifikánsan (sorrendben $p=0,000035$; $p=0,034604$; $p=0,035310$; $p=0,000037$) emelkedett az első 2 hét alatt. A 2. és a 6. hét között további emelkedést észleltünk, mely szignifikáns mértéket már csak a CLA CD8+ Tlymph% esetében ért el ($p=0,022634$). (3-6. táblázat, 8-11. ábra) A „relapsing” betegek körében a CLA 2. hét végéig tartó, átmeneti, mérsékelt növekedését szignifikáns csökkenés követte a 2. és a 6. hét között (CLA tot%, $p=0,034552$; CLA lymph%, $p=0,012539$). (7-10. táblázat, 12-15. ábra) A kezelés előtti CLA expresszió vonatkozásában jóval alacsonyabb értékeket találtunk a „responderek”-nél a „relapsing” betegek adataihoz hasonlítva, jóllehet a különbség nem bizonyult szignifikánsnak. A psoriasisos betegek (külön a „responder”, külön a „relapsing” és egyben a teljes csoport) iniciális CLA expressziója és a kontroll populáció egyszer mért expressziója között (a CLA CD4+ Tlymph% kivételével) szignifikáns eltérés nem mutatkozott. A CLA CD4+ Tlymph% hányados szignifikánsan alacsonyabb volt a psoriasisos betegeknél („responder” csoportot és valamennyi páciensst együttesen figyelembe véve), mint az egészséges, felnőtt kontroll személyeknél ($p=0,020716$ és $p=0,035284$). (11-14. táblázat, 16-19. ábra)

A terápiás kimenetelt esetlegesen befolyásoló klinikai faktorok vizsgálatával az alábbi megfigyeléseket tettük: A kórállapot kezdeti súlyosságát illetően szignifikáns különbség nem volt a két betegcsoport között, a „responderek” átlagos PASI-ja $23,42 \text{ SD} \pm 6,06$, a „relapsing” pácienseké pedig $25,25 \text{ SD} \pm 5,69$ volt. A betegség átlagos időtartama a study indításakor szintén hasonlóan alakult, a „responderek” esetében $17,23 \text{ SD} \pm 7,68$ éve, míg a „relapsing” csoportban $23,50 \text{ SD} \pm 18,15$ éve diagnosztizálták a kórképet. Arthritis psoriatica fennállása a 32 „responder” beteg közül 18 betegnél, míg a 6 „relapsing” páciensnél 5 esetben volt igazolható. 3/32 „responder”, valamint 1/6 „relapsing” beteg nem volt biológiai terápia naiv, náluk egy megelőző TNF- α gátló kezelés kapcsán észlelt terápiás hatásvesztés miatt vált szükségessé a biológikum váltása.

3. táblázat A CLA tot% expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. A pirossal kiemelt p értékek a vizsgált időpontok közti szignifikáns expresszió változásokat jelölik. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye)

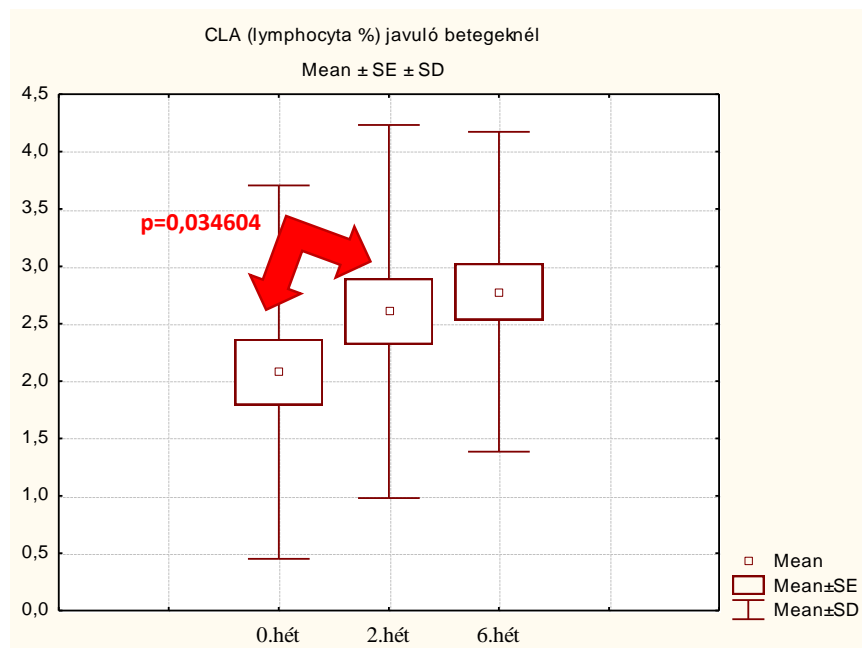
CLA tot%	Átlag	Standard Deviació	Minta-szám	Differencia	Standard Deviació	t érték	p érték
0. hét	0,450312	0,363624					
2. hét	0,761875	0,466887	32	-0,311563	0,365108	-4,82724	0,000035
0. hét	0,450312	0,363624					
6. hét	0,881563	0,512062	32	-0,431250	0,462774	-5,27151	0,000010
2. hét	0,761875	0,466887					
6. hét	0,881563	0,512062	32	-0,119688	0,482898	-1,40207	0,170830



8. ábra A CLA tot% expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba) A nyíl és a p érték a szignifikáns elevációt mutatja a kezelés 0. és 2. hete között.

4. táblázat A CLA lymph% expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. A pirossal kiemelt p értékek a vizsgált időpontok közti szignifikáns expresszió változásokat jelölik. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye)

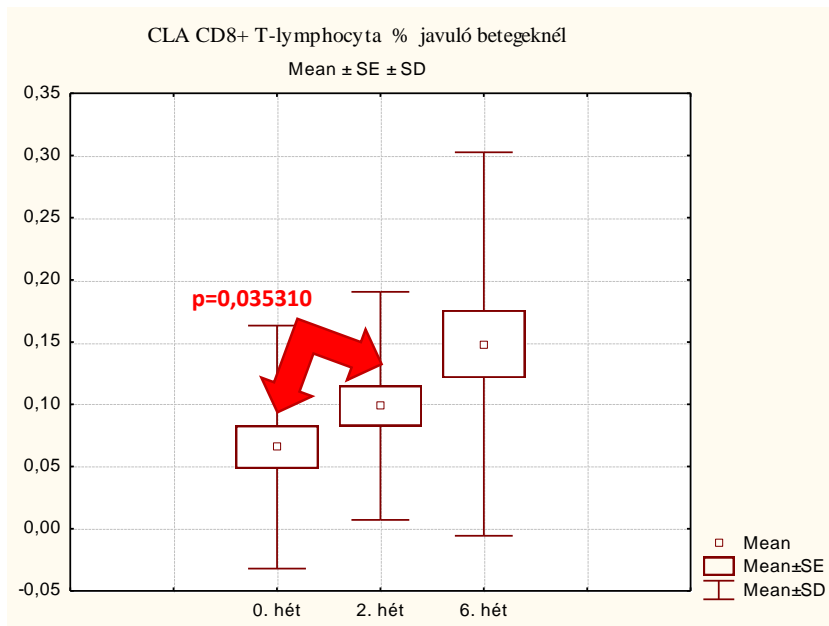
CLA lymph%	Átlag	Standard Deviáció	Minta-szám	Differencia	Standard Deviáció	t érték	p érték
0. hét	2,078437	1,626848					
2. hét	2,606562	1,625722	32	-0,528125	1,351698	-2,21020	0,034604
0. hét	2,078437	1,626848					
6. hét	2,778750	1,393674	32	-0,700312	1,500132	-2,64081	0,012838
2. hét	2,606562	1,625722					
6. hét	2,778750	1,393674	32	-0,172187	1,351350	-0,720790	0,476439



9. ábra A CLA lymph% expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba) A nyíl és a p érték a szignifikáns elevációt mutatja a kezelés 0. és 2. hete között.

5. táblázat A CLA CD8+ Tlymph% expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. A pirossal kiemelt p értékek a vizsgált időpontok közti szignifikáns expresszió változásokat jelölik. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye)

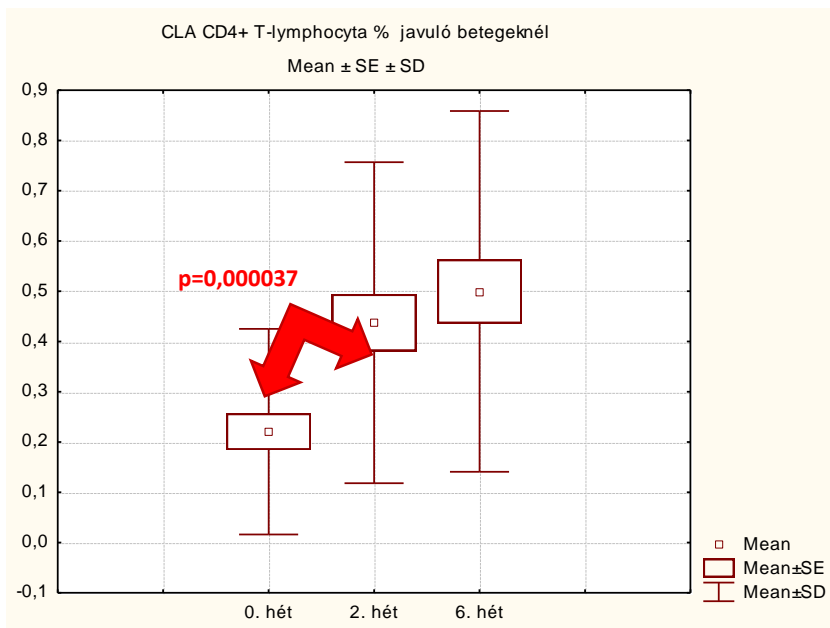
CLA CD8+ Tlymph%	Átlag	Standard Deviáció	Minta-szám	Differencia	Standard Deviáció	t érték	p érték
0. hét	0,065625	0,097648					
2. hét	0,098750	0,091643	32	-0,033125	0,085135	-2,20101	0,035310
0. hét	0,065625	0,097648					
6. hét	0,148438	0,154107	32	-0,082813	0,147544	-3,17504	0,003377
2. hét	0,098750	0,091643					
6. hét	0,148438	0,154107	32	-0,049688	0,117157	-2,39914	0,022634



10. ábra A CLA CD8+ Tlymph% expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba) A nyíl és a p érték a szignifikáns elevációt mutatja a kezelés 0. és 2. hete között.

6. táblázat A CLA CD4+ Tlymph% expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. A pirossal kiemelt p értékek a vizsgált időpontok közti szignifikáns expresszió változásokat jelölik. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye)

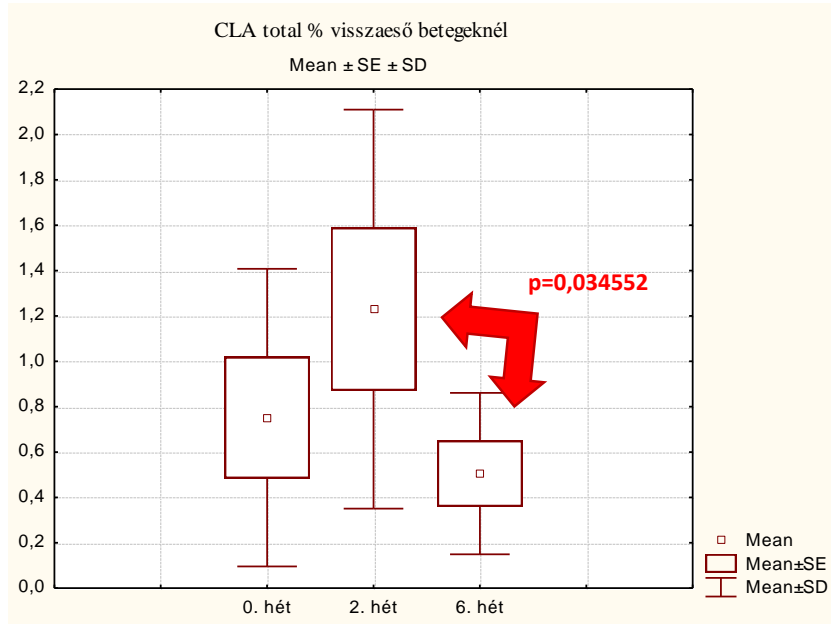
CLA CD4+ Tlymph%	Átlag	Standard Deviació	Minta-szám	Differencia	Standard Deviació	t érték	p érték
0. hét	0,220625	0,204465					
2. hét	0,437500	0,319435	32	-0,216875	0,255285	-4,80572	0,000037
0. hét	0,220625	0,204465					
6. hét	0,499688	0,358909	32	-0,279062	0,310311	-5,08721	0,000017
2. hét	0,437500	0,319435					
6. hét	0,499688	0,358909	32	-0,062187	0,342107	-1,02829	0,311769



11. ábra A CLA CD4+ Tlymph% expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba) A nyíl és a p érték a szignifikáns elevációt mutatja a kezelés 0. és 2. hete között.

7. táblázat A CLA tot% expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. A pirossal kiemelt p érték a vizsgált időpontok közti szignifikáns expresszió változást jelöli. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye)

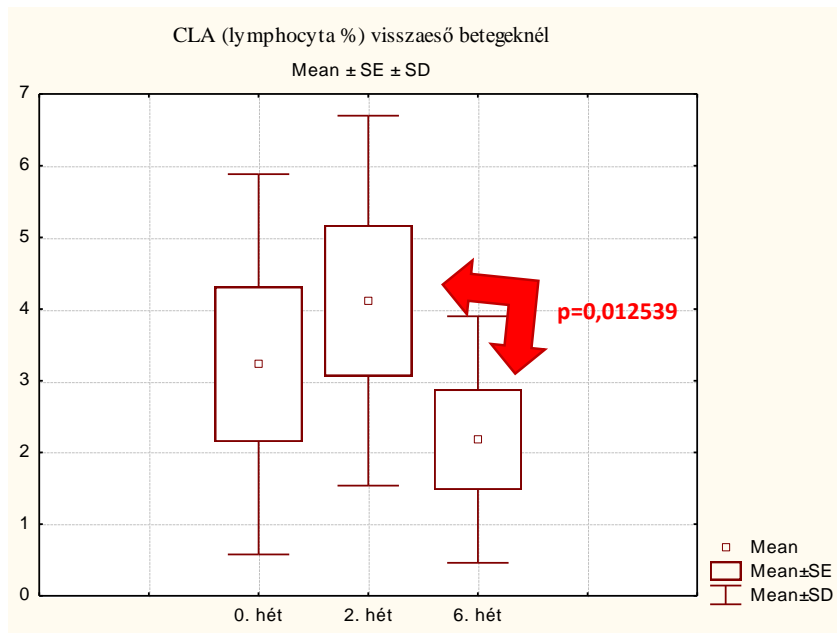
CLA tot%	Átlag	Standard Deviáció	Minta-szám	Differencia	Standard Deviáció	t érték	p érték
0. hét	0,751667	0,656122					
2. hét	1,230000	0,879341	6	-0,478333	0,627771	-1,86640	0,120972
0. hét	0,751667	0,656122					
6. hét	0,505000	0,355739	6	0,246667	0,578780	1,04393	0,344337
2. hét	1,230000	0,879341					
6. hét	0,505000	0,355739	6	0,725000	0,616433	2,880896	0,034552



12. ábra A CLA tot% expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba) A nyíl és a p érték a szignifikáns expresszió csökkenést mutatja a kezelés 2. és 6. hete között.

8. táblázat A CLA lymph% expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. A pirossal kiemelt p érték a vizsgált időpontok közti szignifikáns expresszió változást jelöli. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye)

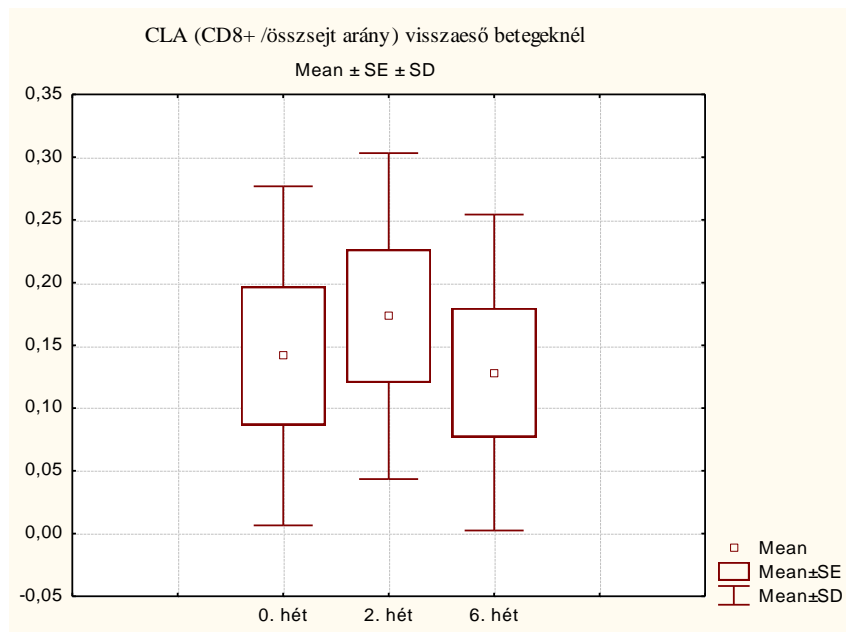
CLA lymph%	Átlag	Standard Deviació	Minta-szám	Differencia	Standard Deviació	t érték	p érték
0. hét	3,230000	2,652124					
2. hét	4,116667	2,579842	6	-0,886667	1,578679	-1,37576	0,227328
0. hét	3,230000	2,652124					
6. hét	2,180000	1,719011	6	1,050000	1,694367	1,51795	0,189483
2. hét	4,116667	2,579842					
6. hét	2,180000	1,719011	6	1,936667	1,246109	3,806928	0,012539



13. ábra A CLA lymph% expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba) A nyíl és a p érték a szignifikáns expresszió csökkenést mutatja a kezelés 2. és 6. hete között.

9. táblázat A CLA CD8+ Tlymph% expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye)

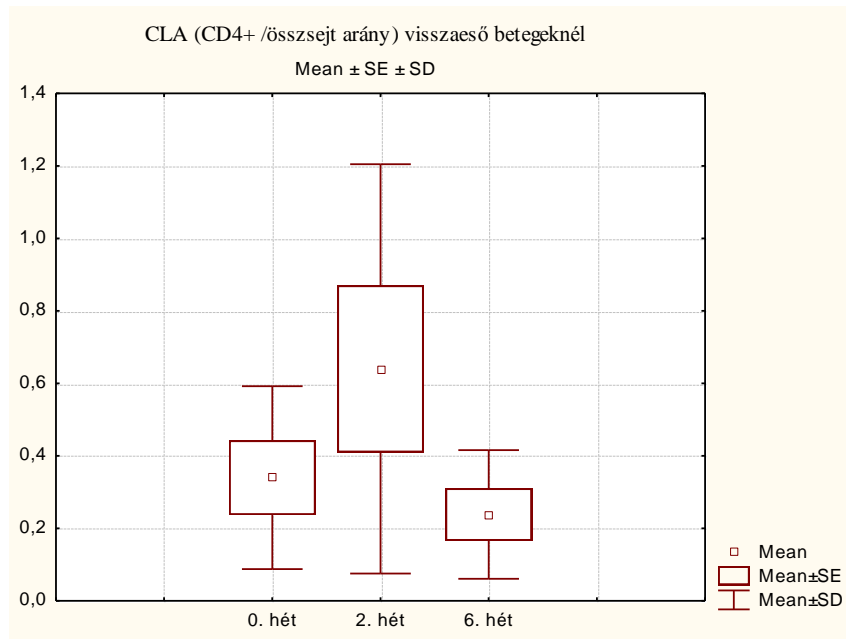
CLA CD8+ Tlymph%	Átlag	Standard Deviació	Minta-szám	Differencia	Standard Deviació	t érték	p érték
0. hét	0,141667	0,135117					
2. hét	0,173333	0,129872	6	-0,031667	0,059805	-1,29700	0,251254
0. hét	0,141667	0,135117					
6. hét	0,128333	0,125923	6	0,013333	0,140665	0,23218	0,825601
2. hét	0,173333	0,129872					
6. hét	0,128333	0,125923	6	0,045000	0,111490	0,988673	0,368222



14. ábra A CLA CD8+ Tlymph% expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba)

10. táblázat A CLA CD4+ Tlymph% expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba eredménye)

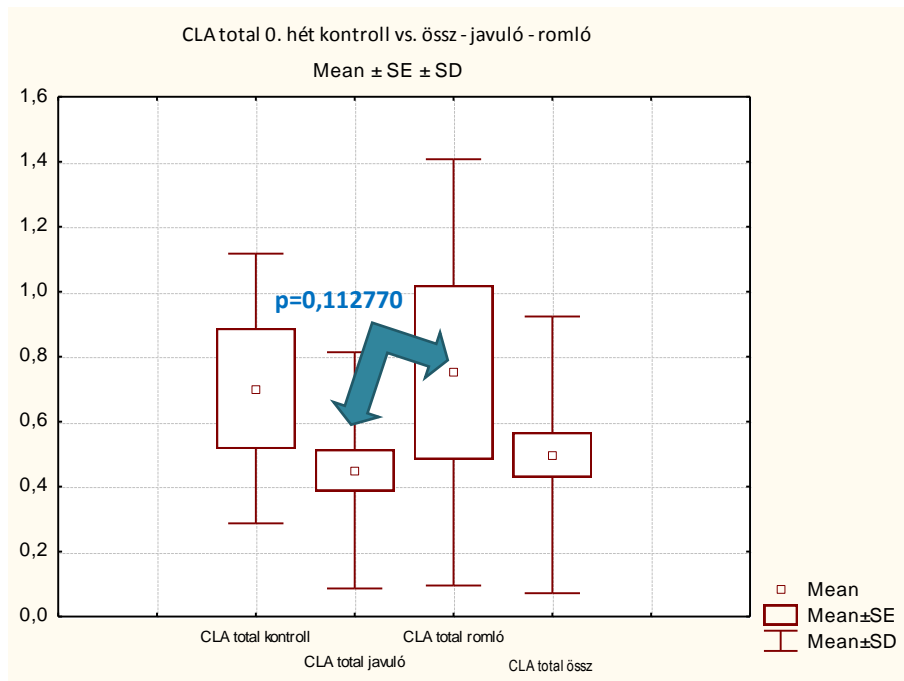
CLA CD4+ Tlymph%	Átlag	Standard Deviació	Minta-szám	Differencia	Standard Deviació	t érték	p érték
0. hét	0,340000	0,252349					
2. hét	0,640000	0,564588	6	-0,300000	0,465489	-1,57866	0,175247
0. hét	0,340000	0,252349					
6. hét	0,238333	0,177586	6	0,101667	0,163024	1,52758	0,187152
2. hét	0,640000	0,564588					
6. hét	0,238333	0,177586	6	0,401667	0,445395	2,209002	0,078203



15. ábra A CLA CD4+ Tlymph% expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetében. (Student-féle kétmintás T-próba)

11. táblázat A CLA tot% expresszió értékei a kontroll csoportban és kezelés előtti értékei a psoriasisos betegcsoportban. A feltüntetett p értékek a kontroll személyek és a betegek értékeinek viszonyát, valamint az egyes betegcsoportok adatai közti különbséget jellemzik. (Student-féle kétmintás T-próba)

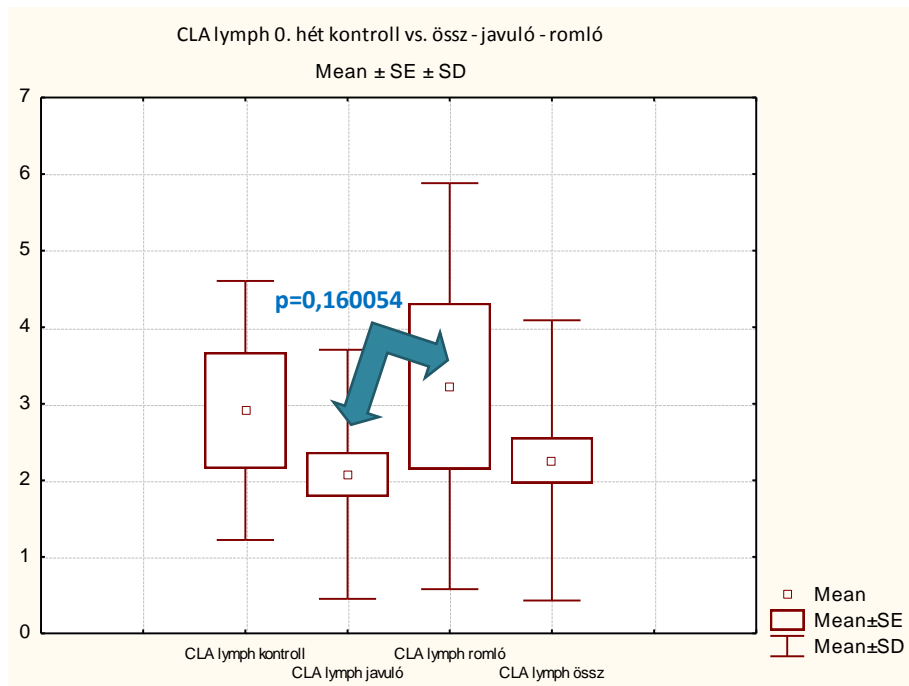
CLA tot%	kontroll	javuló	visszaeső	összes beteg
ÁTLAG	0,702000	0,450312	0,751667	0,497895
P ÉRTÉK	kontroll vs.	0,165883	0,887160	0,318450
		javuló vs. visszaeső	javuló vs. összes	visszaeső vs. összes
CLA tot%	P ÉRTÉK	0,112770	0,620499	0,215501



16. ábra A CLA tot% expresszió értékei a kontroll csoportban és kezelés előtti értékei a psoriasisos betegcsoportban (javuló, visszaeső=romló, összes beteg). A kék nyíl és a feltüntetett (nem szignifikáns) p érték a „responder” és „relapsing” betegek átlagértékeinek viszonyát mutatja. (Student-féle kétmintás T-próba)

12. táblázat A CLA lymph% expresszió értékei a kontroll csoportban és kezelés előtti értékei a psoriasisos betegcsoportban. A feltüntetett p értékek a kontroll személyek és a betegek értékeinek viszonyát, valamint az egyes betegcsoportok adatai közti különbséget jellemzik. (Student-féle kétmintás T-próba)

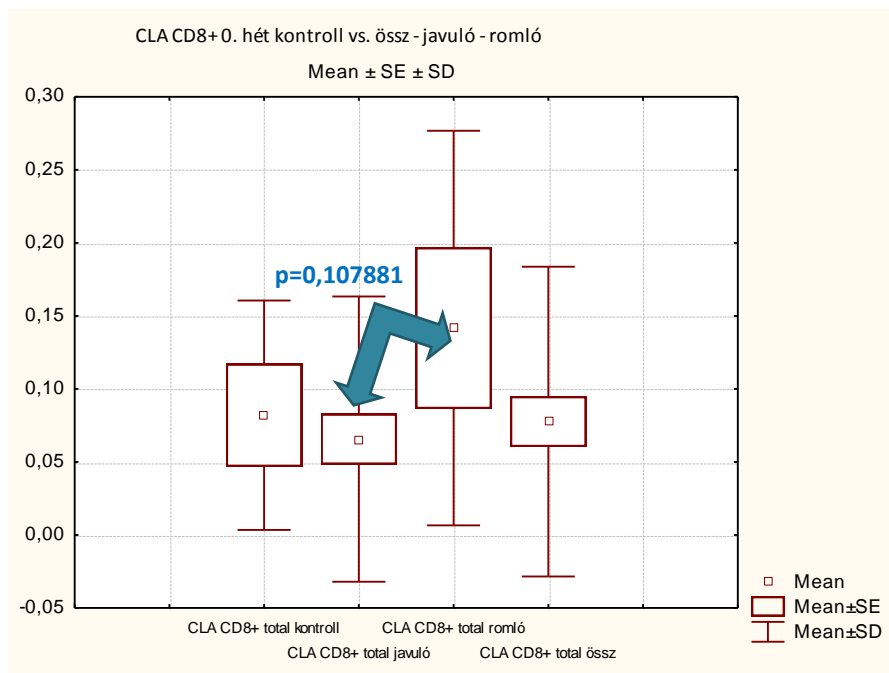
CLA lymph%	kontroll	javuló	visszaeső	összes beteg
ÁTLAG	2,912000	2,078437	3,230000	2,260263
P ÉRTÉK	kontroll vs.	0,296155	0,822674	0,455177
		javuló vs. visszaeső	javuló vs. összes	visszaeső vs. összes
CLA lymph%	P ÉRTÉK	0,160054	0,664617	0,263124



17. ábra A CLA lymph% expresszió értékei a kontroll csoportban és kezelés előtti értékei a psoriasisos betegcsoportban (javuló, visszaeső=romló, összes beteg). A kék nyíl és a feltüntetett (nem szignifikáns) p érték a „responder” és „relapsing” betegek átlagértékeinek viszonyát mutatja. (Student-féle kétmintás T-próba)

13. táblázat A CLA CD8+ Tlymph% expresszió értékei a kontroll csoportban és kezelés előtti értékei a psoriasisos betegcsoportban. A feltüntetett p értékek a kontroll személyek és a betegek értékeinek viszonyát, valamint az egyes betegcsoportok adatai közti különbséget jellemzik. (Student-féle kétmintás T-próba)

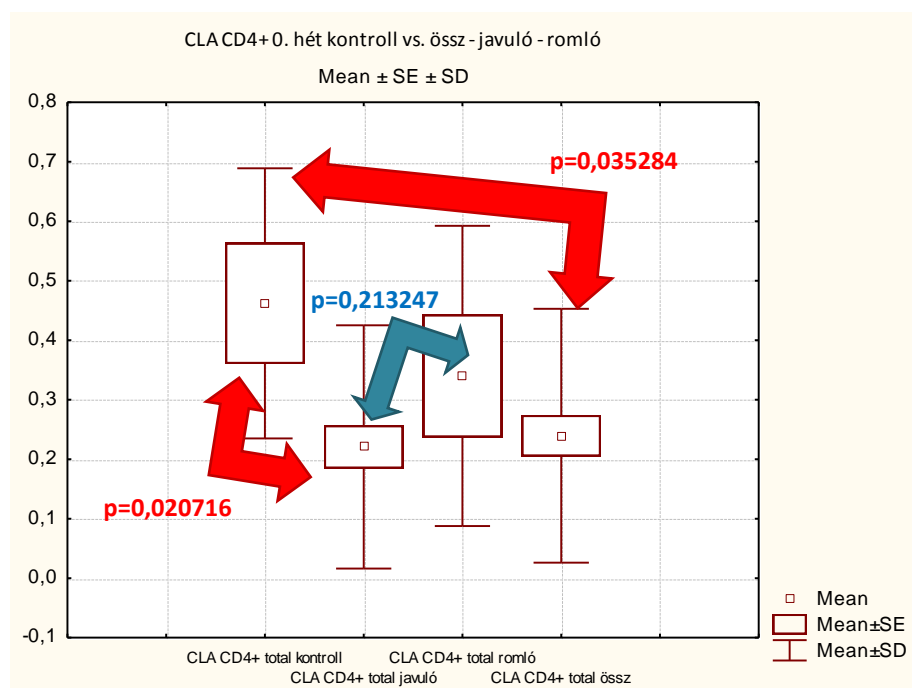
CLA CD8+ Tlymph%	kontroll	javuló	visszaeső	összes beteg
ÁTLAG	0,082000	0,065625	0,141667	0,077632
P ÉRTÉK	kontroll vs.	0,723997	0,407904	0,929860
		javuló vs. visszaeső	javuló vs. összes	visszaeső vs. összes
CLA CD8+ Tlymph%	P ÉRTÉK	0,107881	0,626303	0,191928



18. ábra A CLA CD8+ Tlymph% expresszió értékei a kontroll csoportban és kezelés előtti értékei a psoriasisos betegcsoportban (javuló, visszaeső=romló, összes beteg). A kék nyíl és a feltüntetett (nem szignifikáns) p érték a „responder” és „relapsing” betegek átlagértékeinek viszonyát mutatja. (Student-féle kétmintás T-próba)

14. táblázat A CLA CD4+ Tlymph% expresszió értékei a kontroll csoportban és kezelés előtti értékei a psoriasisos betegcsoportban. A feltüntetett p értékek a kontroll személyek és a betegek értékeinek viszonyát, valamint az egyes betegcsoportok adatai közti különbséget jellemzik. (Student-féle kétmintás T-próba)

CLA CD4+ Tlymph%	kontroll	javuló	visszaeső	összes beteg
ÁTLAG	0,462000	0,220625	0,340000	0,239474
P ÉRTÉK	kontroll vs.	0,020716	0,425624	0,035284
		javuló vs. visszaeső	javuló vs. összes	visszaeső vs. összes
CLA CD4+ Tlymph%	P ÉRTÉK	0,213247	0,708738	0,300907



19. ábra A CLA CD4+ Tlymph% expresszió értékei a kontroll csoportban és kezelés előtti értékei a psoriasisos betegcsoportban (javuló, visszaeső=romló, összes beteg). A nyilak és a feltüntetett p értékek (kék: nem szignifikáns, piros: szignifikáns) a kontroll személyek és a betegek értékeinek viszonyát, valamint a két betegcsoport adatai közti különbséget mutatják. (Student-féle kétmintás T-próba)

5.3. A Pearson-féle korreláció analízis eredménye

Korreláció analízissel szignifikáns negatív, mérsékelten erős korrelációt (Pearson-féle korrelációs koefficiens r : 0,30-0,49; $p < 0,05$) tudtunk igazolni a tartós klinikai válaszkészség megítélésében fontos PASI változás (PASI 12. hét vs. 24. hét) és a betegcsoportokban szignifikáns eltéréseket mutató CLA változások (CLA 0. hét vs. 6. hét, CLA 2. hét vs. 6. hét) között. (15. táblázat) Ez az eredmény pedig alátámasztotta a kapott expressziós adatok alapján levont következtetésünket, miszerint a terápia tartós eredményességét reprezentáló PASI értékek és a CLA expresszió alakulása egymástól függő változók.

15. táblázat A Pearson-féle korreláció analízis eredménye a teljes betegpopuláció PASI és CLA értékeit együttesen vizsgálva. (r : Pearson-féle korrelációs koefficiens; $r=0,1-0,29$ gyenge korreláció, $r=0,30-0,49$ mérsékelten erős korreláció, $r > 0,5$ erős korreláció; szignifikáns kapcsolat, ha $p < 0,05$) Szignifikáns negatív, mérsékelten erős korrelációt a 12. és 24. hét PASI változása és a 0. - 6., valamint 2. - 6. heti CLA változások között találtunk.

PASI 12-24 vs. CLA 0-6	CLA tot%	CLA lymph%	CLA CD8+ Tlymph%	CLA CD4+ Tlymph%
r	-0,382	-0,365	-0,220	-0,318
p	0,009	0,012	0,093	0,026
PASI 12-24 vs. CLA 0-2	CLA tot%	CLA lymph%	CLA CD8+ Tlymph%	CLA CD4+ Tlymph%
r	0,158	0,011	0,047	0,199
p	0,171	0,473	0,390	0,115
PASI 12-24 vs. CLA 2-6	CLA tot%	CLA lymph%	CLA CD8+ Tlymph%	CLA CD4+ Tlymph%
r	-0,320	-0,401	-0,302	-0,409
p	0,025	0,006	0,033	0,005

6. Megbeszélés

6.1. A TNF- α és a CLA pathogenetikai kapcsolata

Vizsgálatunk célkitűzése az elfogadott, alkalmas biomarker hiányának megfelelően a CLA molekula potenciális prediktív szerepének analizálása volt psoriasis vulgaris TNF- α gátló kezelése során. A kulcsfontosságú bőrspecifikus homing marker ezirányú jelentőségének lehetőségét a TNF- α CLA expressziót befolyásoló hatása alapján feltételeztük, mely két alapvető szinten valósul meg: A TNF- α számos gyulladásosejtfejlésnek, köztük a Th1 és Th17 útvonal lymphocytáinak terméke, és pleiotrop funkciójából adódóan egyben a psoriasis pathogenezisének központi proinflammatorikus citokinje. A dendritikus sejtek érésének promóciója révén elősegíti az antigénprezentáció folyamatát. Az antigénprezentáló sejtek szekretált citokinjeinek jellegzetes összetétele (a nagy mennyiségben elválasztott IL-12 és IL-23) pedig a Th1 és Th17 irányú differenciálódást serkenti. A típusos citokinmilieu a bevezetőben ismertetett módon fokozza az érő lymphocyták membránjában a CLA expresszióját, vagyis ez alapján a TNF- α egyfelől indirekt módon, a dendritikus sejtek maturációján keresztül növeli a CLA+, bőrbe vándorló, patogén T-lymphocyták számát. (81, 160) Másrészt a gyulladás folyamatához nélkülözhetetlen lépésként upregulálja a bőr mikroereinek endothelrétegén expresszálandó specifikus és nonspecifikus adhéziós molekulákat. Groves és mtsai. normál humán bőrben 100 egység humán rekombináns TNF- α 5 napos intradermális adagolását követően kimutatták az E-selectin, ICAM-1, VCAM-1 molekulák és a CD3+, CD4+ T-lymphocyták upregulációját. (161) Terajima és mtsai. tünetes psoriasisos bőrben normál, egészséges bőrhöz viszonyítva ELISA vizsgálati módszerrel erős pozitívítást detektáltak mind az adhéziós molekulák (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin, P-selectin), mind pedig a TNF- α vonatkozásában. (162) Uyemura és mtsai. a Th1 lymphocyták érintettségének megfelelően nagy mennyiségben találtak Th1 citokineket és ezek mRNS molekuláit (TNF- α , IL-1), valamint kórosan fokozott endotheliális adhéziós molekula (E-selectin, VCAM-1) expressziót psoriasisos betegek tünetes és tünetmentes bőrmintáiban egyaránt. (163) Az endotheliális adhéziós

receptorok számának növelésével tehát a TNF- α szintén befolyásolja a perifériás CLA+ T-sejtek mennyiségét, serkenti a gyulladt bőrbe történő lymphocyta extravasatiót. (81, 162, 164, 165)

6.2. A CLA expresszió alakulása a „responder” betegcsoportban

A terápia megkezdése előtt a kezelés hatására tartósan tünetmentessé váló, ún. „responder” csoportban a visszaeső, ún. „relapsing” betegekkel összehasonlítva a CLA alacsony kiindulási értékeit találtuk, ugyan a különbség nem volt szignifikáns. A 6 hónapos terápiás intervallum első 2 hetében minden expressziós ráta szignifikáns növekedést mutatott. A 2. és a 6. hét között további emelkedő tendenciát tapasztaltunk, ez azonban az esetek döntő többségében (a CLA CD8+ Tlymph% expressziós hányadost kivéve) szignifikáns mértéket már nem ért el.

Ezeknél a pácienseknél a TNF- α blokkolása nyomán feltételezhetően csökken a dendritikus sejtek érése, antigénprezentáló készsége, s így a T-sejtek maturációs és differenciációs folyamata is. Következésképpen az aktivált CLA+ T-sejtek vélhetőleg lényegesen kisebb számban találhatóak meg a bőrben. (166) Zaba és mtsai. etanercept terápia kapcsán végeztek gén cluster analízist, mely azt igazolta, hogy az eredményes kezelésre leggyorsabban downregulálódó génszakaszok épp a myeloid sejtvonal génjei (CD33, CD14). A T-sejt specifikus gének modulációja csak később jelentkezett, szintén azt sugallva, hogy a TNF- α blokkolása elsőként a myeloid sejtek génexpresszióját befolyásolja, s ez következményesen hat a patogén T-sejtek mennyiségére és funkcionális működésére. (156)

A psoriasisos léziókban a gyulladás TNF- α gátlása által megvalósuló mérséklődése azzal a következménnyel jár, hogy az extravasálódott CLA+ T-sejtek apoptotizálnak vagy a nyirokkeringés közvetítésével visszakerülnek a véráramba. (38, 167) A gyulladással lymphocyták recirkulációs képességét több munkacsoport feltételezte az efalizumab terápia hatásmechanizmusának vizsgálati eredményei alapján is. Harper és

mtsai. atópiás dermatitis 84 napos efalizumab kezelését követően a keringő CLA+CD4+ és CLA+CD8+ T-sejtek mennyiségének mintegy négyszeres emelkedését találták. A jelenség hátterében az LFA-1 gátlásával megvalósuló extravasatio blokád mellett valószínűsítették a CLA+ T-lymphocyták tömeges visszaáramlását a lézionális bőrből a perifériás véráramba a bőrtünetek szignifikáns regressziójával párhuzamosan. (168) Hasonlóképpen magyarázták Vugmeyster és mtsai. megfigyelésüket, miszerint krónikus plakkos psoriasisos betegeknél az alkalmazott efalizumab terápia hatására a klinikai javulás kíséretében a perifériás CD3+, és azon belül mindenekelőtt a CD3+CD8+ T-sejtek szignifikáns upregulációja volt észlelhető. (169)

Végezetül, a TNF- α eredményes inhibíciója a bőr mikroerek adhézións molekuláinak kifejezett downregulációjával gátolja a CLA+ lymphocyták kiáramlását, visszatartva őket a perifériás keringésben. Cordiali-Fei és mtsai. vizsgálatában psoriasis eredményes infliximab terápia során a bőrtünetek javulása együtt járt a mátrix metalloproteináz enzimek mérséklődő expressziójával, illetve a TNF- α és az E-selectin szöveti és szérumszintjének csökkenésével. (170) Goedkoop és mtsai. aktív bőrtüneteket is prezentáló, arthritis psoriaticus pácienseknél egyetlen infliximab infúzió hatásának placebokontrollos vizsgálatát végezték el. A synoviális szövetből és a tünetes bőrből vett biopsziás mintákban a T-lymphocyták infliximab indukálta szignifikáns downregulációját találták, ami az apoptózis próbák eredménye alapján a T-sejtek fokozott apoptózisával nem volt magyarázható. (171) Ennek a leletnek mintegy kiegészítéseként, ugyanilyen betegpopulációt bevonva a munkacsoport infliximab és methotrexate együttes adásakor 4 hét után a synoviális és a bőrbopsziás szövetmintákban ugyancsak a sejtes infiltrátum (CD3+ lymphocyták, CD68+ macrophágok) és az adhézións receptorok (E-selectin, ICAM-1, VCAM-1) jelentős csökkenését detektálta. A downreguláció mértéke a bőrmintákban minden paraméter vonatkozásában meghaladta a statisztikai szignifikancia határát. (172) A TNF- α blokkolásának adhézións molekula expressziót befolyásoló hatását más krónikus gyulladásos kórállapotban, így pl. rheumatoid arthritis esetében is igazolták: Tak és mtsai. synoviális szövetmintában 14 hetes infliximab kezelés után a VCAM-1 és az E-selectin molekulák expressziójának, valamint következményesen a CD3+ T-sejtek számának szignifikáns csökkenését mutatták ki. (173) Klimiuk és mtsai. pedig infliximab és methotrexate kombinált terápia adásakor aktív rheumatoid arthritisben

szenvedő betegcsoportban a szérumban lévő szolubilis adhéziós molekulák (sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin) szignifikáns mértékű downregulációját tapasztalták. (174)

Vélhetőleg mindezek az események együttesen vezetnek a CLA⁺ T-sejtek véráramban történő ugrásszerű felszaporodásához, amit azoknál a betegeknél láttunk, akik adekvát, hosszantartó választ adtak a TNF- α gátló kezelésre.

Egyelőre nem találtunk kétséget kizáró magyarázatot arra a tényre, miszerint ebben a csoportban az iniciációs CLA értékek, még ha nem is szignifikáns mértékben, de jóval alacsonyabbak voltak a „relapsing” betegekéhez képest, miközben a két betegpopuláció klinikai súlyosságot tükröző kezdeti PASI pontszámok között említésre méltó eltérés nem volt megfigyelhető. Mindenesetre feltételezzük, hogy a patogén sejtborzolás fenntartásáért felelős esetleges provokáló antigénstimulus kifejezettebb lehet a romló betegeknél, és talán ez okozhatja az említett expressziós különbséget. Az immunsejt infiltráció nagy valószínűséggel a jellegzetes tünetek provokálásában, kialakulásuk kezdeti fázisában játszik vezető szerepet, s bár később is alapvető fontosságú marad, a manifeszt plakkokban már nagyobb részt a generált citokinhálózat tartja fenn a kóros gyulladásos körfolyamatot. (48, 49, 175) Így talán az is érthetőbbé válik, hogy mindkét betegcsoportban az évek óta fennálló betegség klinikailag nem nyilvánul meg jelentős diverzitásban. Ennek ugyanakkor ellentmondanak azok az irodalmi adatok, amik szignifikáns asszociációt demonstrálnak a krónikus plakkos psoriasis súlyossága, valamint a perifériás CLA⁺ T-sejtek száma között. Tovább bonyolítja a kérdést, hogy a kapcsolat jellegét illetően még ezekben a tanulmányokban sincs egyértelmű konszenzus. Sigmundsdóttir és mtsai. 36, krónikus plakkos psoriasisban szenvedő beteget vizsgáltak, és kimutatták, hogy a perifériás CLA⁺CD8⁺ T-lymphocyták mennyisége pozitívan korrelál a betegség súlyosságát reprezentáló PASI pontértékekkel. A CLA⁺CD4⁺ T-sejtek vonatkozásában a korreláció erősségét sokkal mérsékeltebbnek találták, s így a látható tünetek tartós fenntartásának feltételeként elsősorban a CLA⁺CD8⁺ T-sejtpopuláció upregulációját jelölték meg. (50) Pont-Giralt és mtsai. ezzel szemben 15 akut (8 plakkos psoriasis exarbatio, 7 guttált) és 16 krónikus plakkos psoriasisos beteg, illetve 11 egészséges kontroll összehasonlításakor az aktivált CLA⁺CD3⁺HLA-DR⁺ és CLA⁺CD4⁺HLA-DR⁺ T-sejtek szignifikánsan legnagyobb perifériás mennyiségét az akut psoriasisos eseteknél észlelték, és ezen sejtek száma, valamint a klinikai kép

súlyossága között szignifikáns pozitív korrelációt is csak az akut psoriasisos betegcsoportban detektáltak. Ugyanezen sejtpopulációknak a vonatkozásában krónikus psoriasisban szenvedőknél azonban épp inverz korreláció volt kimutatható a PASI pontszámmal. Ez a munkacsoport nagyon alacsony számban mért a vérkeringésben CLA+CD8+HLA-DR+ T-lymphocytát, így ezeket a sejteket nem tudta érdemben vizsgálni. (49) Zhang és mtsai. eredményei alapján a Th17 lymphocyták és a Treg-sejtek perifériás vérben és tünetes bőrben mért száma a PASI-val egyenes arányban változva szintén a klinikai súlyosság hiteles markere lehet. (176) Arican és mtsai. sejtszámanalízist nem végeztek, ám a patogén lymphocyták típusos szekretált citokinjeit (TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-18) szignifikánsan emelkedett mennyiségben találták krónikus plakkos psoriasisos betegek perifériás vérmintáiban egészséges kontrollok értékeihez viszonyítva, és több citokin (IFN- γ , IL-12, IL-17, IL-18) szérumszintje szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a kórállapot aktivitásával és súlyosságával. (177)

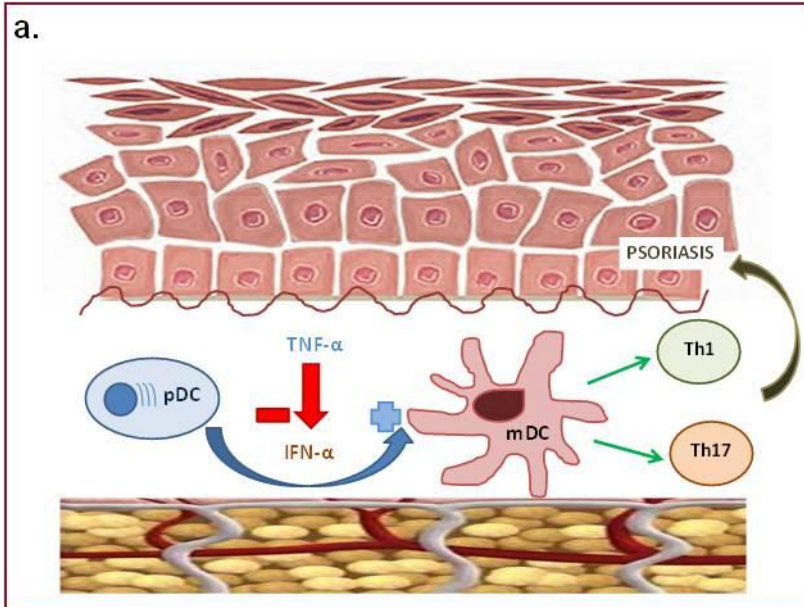
6.3. A CLA expresszió alakulása a „relapsing” betegcsoportban

A kezdeti, átmeneti regressziót követően a kezelés 12. és 24. hete között a bőrtünetek markáns fellángolását tapasztaltuk a visszaeső, ún. „relapsing” betegeknél. A „responder” betegekkal összehasonlítva kiindulási CLA expressziójuk ugyan nem szignifikáns mértékben, de nagyobb mértékű volt. A terápia első 2 hetében a perifériás CLA expresszió mérsékelt fokozódása előzte meg a 2. és a 6. hét között észlelt, szignifikáns expresszió csökkenést. A downreguláció mértéke nem minden expressziós hányados esetében érte el a szignifikancia határát: a CLA tot% és a CLA lymph% valóban szignifikánsnak bizonyult, a T-sejt alpopulációkat külön-külön vizsgálva (CLA CD8+ Tlymph%, CLA CD4+ Tlymph%) pedig erős csökkenő tendenciát sikerült igazolni.

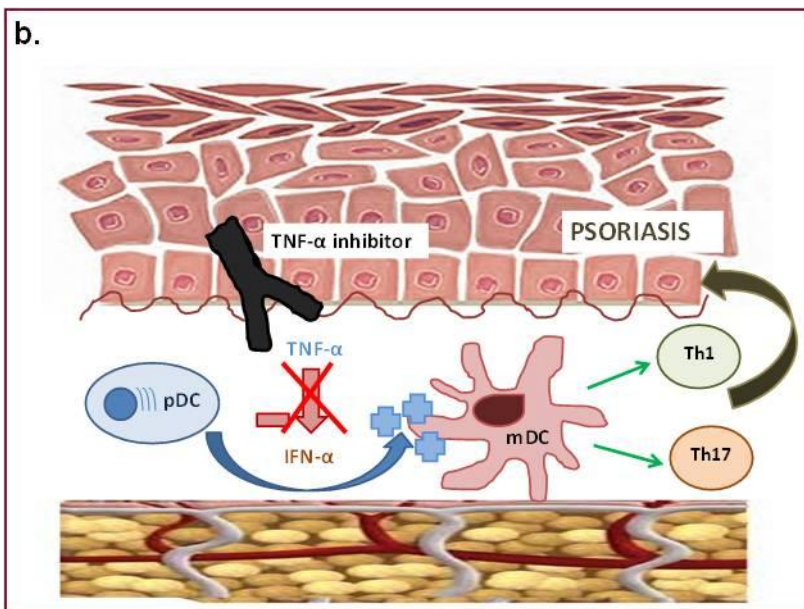
Az anti-TNF- α kezelés potenciális prediktív markereinek fentebbi kifejtése során említésre került a Treg-sejtek ezirányú esetleges jelentősége. A megfogalmazott hipotézis szerint a genetikailag szuszceptibilis egyéneknél a tartós TNF- α expozíció a korábbi ismereteknek merőben ellentmondóan nem gátolja, hanem épp stimulálja a Treg-sejtpopulációt. Így a citokin gátlása a Treg-sejtek megkevesbedését, és következményesen, a reguláció alól felszabaduló proinflammatorikus sejtek aktiválódását, a psoriasisos gyulladás exacerbációját eredményezi. (152) Lévén, hogy a Treg-sejtek döntő többségét az irodalom a CD4+ T-sejtek csoportjába sorolja, vizsgálatunkban, bár mennyiségi detektálást nem tudtunk végezni, mérlegeltük esetleges involvációjukat az észlelt expressziós változások háttérében. Felmerült ugyanis az a lehetőség, hogy a 2. és a 6. hét között detektált CLA csökkenés a CD4+ T-sejt populáción belül talán döntően a Treg-sejtek downregulációjának volt köszönhető. Ez feltételezte volna, hogy a kisszámú visszaeső betegkörben ténylegesen a TNF- α sajátos Treg-sejtet befolyásoló hatása jutott érvényre, mely effektus a TNF- α blokkolásával megszűnt, s a citokin proinflammatorikus funkciócsökkenéséből adódó átmeneti regressziót követően a tünetek fellobbanását eredményezte. Azonban ha az előző teóriát vesszük alapul, akkor a CD8+ proinflammatorikus T-lymphocytáknak nem csökkenését, hanem épp ellenkezőleg, ugrásszerű számbeli felszaporodását vártuk volna, a Treg-sejtes inhibíció alól történő felszabadulás következtében.

A „relapsing” pácienseknél a CLA expressziós értékek alakulásának egyik lehetséges magyarázatául egy ismert citokin kölcsönhatás szolgálhat. A psoriasisos plakkok iniciálásában a dermális pDC-ek által elválasztott IFN- α szerepét irodalmi adatok támasztják alá: Egészséges kontrollok bőrmintájával összehasonlítva a psoriasisos plakkokat határoló, még tünetmentes bőrben a pDC-ek szignifikánsan emelkedett számban vannak jelen, és úgy tűnik, a psoriasisos léziókban az IFN- α elsődleges forrásaként szolgálnak. TLR-ligandok hatására aktiválódnak, s termékük a bevezetőben tárgyalt mechanizmussal, a mDC-ek érésének serkentésével segíti elő a gyulladásos T-lymphocyták aktivációját, számbeli növekedését és bőrhomingra specifikus markermintázatának kialakulását. A nagy mennyiségű érett, differenciálódott és aktiválódott CLA+ T-sejt pedig ezt követően beindítja a dermis és az epidermis inflammatorikus eseménysorát. Kevésbé ismert, de az is elképzelhető, hogy a nagy mennyiségű lézionális IFN- α elősegíti a bekebelezett autoantigének mDC-ek általi

keresztprezentációját, ezáltal is támogatva a pathológiás immunválasz kibontakozását. Feltételezik továbbá, hogy az IL-15 indukciójával hozzájárul a patogén T-lymphocyták túléléséhez és expanziójához, valamint, hogy a Th1 útvonal megalapozásaként serkenti a T-sejtekben a T-bet transzkripciós faktor és az IL-12R β 2 receptorlánc expresszióját. (178) A TNF- α -nak, bár köztudottan proinflammatorikus tulajdonságú citokinmolekula, antiinflammatorikus hatását is leírták. E szerint mind a pDC-ek maturációját, mind az IFN- α szekrécióját gátolja. (20. ábra a.) (179, 180) Maga a jelenség tehát, hogy a TNF- α blokkolásával bizonyos betegeknél a bőrtünetek rosszabbodását, vagy akár újonnan induló psoriasis kibontakozását válthatjuk ki, a molekuláris háttér alapján logikus és érthető. Az azonban, hogy miért csak meghatározott egyéneknél történik ez az inverz reakció a TNF- α gátlók adásakor, sokkal kevésbé egyértelműen tisztázott: mindenesetre a TNF- α bőrben mutatott expressziós eltérései vagy a genetikailag fokozott érzékenység az IFN- α -ra egyaránt jelentőséggel bírhat. Ehhez kapcsolódik az a tény is, miszerint a betegség exacerbatiojához a TNF- α szintjének csekély ingadozása is elegendő lehet, míg újkeletű psoriasis fellépéséhez nagyobb mértékű mennyiségi/funkcionális TNF- α csökkenés szükséges. Nem véletlen tehát, hogy csak a TNF- α kifejezetten potens inhibitorai, a monoklonális antitestek esetében jelentettek negatív anamnézis mellett psoriasis manifesztációt, míg a fúziós fehérje etanercept inkább csak a meglévő kórkép rosszabbodását tudta eredményezni. (180) Ha ezt az elméletet követjük kisszámú visszaeső betegcsoportunknál, akkor azt feltételezhetjük, hogy a gyógyszerek hatásmechanizmusából adódóan csökken a bőrben a TNF- α szintje, és ez, a TNF- α sokrétű proinflammatorikus funkcióját is akadályozva, átmenetileg a bőrtünetek regresszióját képes kiváltani. Ugyanakkor az IFN- α serkentésével beindul az a reakciósor, aminek végeredménye a patogén T-lymphocyták felszaporodása, aktiválódása, majd bőrspecifikus migrációja. (20. ábra b.) Ez magyarázhatja a már első két hétben megfigyelhető, fokozódó T-sejt upregulációt.



20. ábra A TNF- α és az IFN- α kölcsönhatása a psoriasis inflammatorikus eseménysorának iniciálásában. **a.)** A TNF- α a plasmocytoid dendritikus sejtek (pDC) és az IFN- α gátlásával inhibitoros hatást gyakorol az antigénprezentáló myeloid dendritikus sejtek (mDC) aktiválására. Így gátolja a pathogenezisben fontos Th1 és Th17 sejtek differenciálódását.



20. ábra A TNF- α és az IFN- α kölcsönhatása a psoriasis inflammatorikus eseménysorának iniciálásában. **b.)** A TNF- α inhibíciójával az IFN- α útvonal felszabadul a gátlás alól, a DC-ek érését, aktiválódását és a pathogén T-lymphocyták differenciációját eredményezve.

A terápia 2. hetétől induló szignifikáns CLA expressziós csökkenés pedig vélhetőleg a CLA+ T-lymphocyták bőrbe történő rapid extravasatiojának következménye. Jó néhány irodalmi adatot találunk a bőrbe homingoló, aktivált Tem sejtek psoriasisos plakkfejldést iniciáló szerepét illetően. Ennek az egyik korai és egyben talán legdemonstratívabb példáját Davison és mtsai. szolgáltatták, akik kimutatták, hogy a CLA+ T-lymphocyták szignifikánsan nagyobb mennyiségben vannak jelen a terjedő plakkot közvetlenül szegélyező, még tünetmentes bőrterületen - nem csak a léziótól távolabbi ép bőrhöz képest, hanem magához a manifeszt plakk aktív széléhez viszonyítva is. Ezzel párhuzamosan a keratinocytá oszódás mértékét tükröző Ki67 nukleáris proliferációs marker szignifikánsan fokozottabb expresszióját azonosították a kifejlődött plakk szélében mind a közvetlenül határos, mind a távolabbi ép bőr expressziójához hasonlítva. Vagyis a T-sejtek nélkülözhetetlenek a tünetek indukálásához, s cutan akkumulációjuk megelőzi a pathogenezis további lépéseit, mint pl. a keratinocytá hyperproliferációt. (181) Néhány évvel később hasonló vizsgálatot végeztek Vissers és mtsai., akik a plakkszéli, a tünetképződés korai stádiumában lévő bőrben a CD8+, valamint a CD45RO+, CD2+ és CD25+ T-sejtek szignifikáns dominanciáját tapasztalták az érintetlen, ép bőrrel összevetve. A hámsejtek túlburjánzásának szekunder fellépését reprezentálva a Ki67+ keratinocyták itt is a már manifeszt bőrlézió belső határán mutatkoztak szignifikáns többletben. (182) Ferran és mtsai. krónikus plakkos psoriasis akut fellángolásánál (és hasonlóképpen guttált psoriasisnál) szignifikáns negatív korrelációt írtak le a súlyosságot reprezentáló PASI értékek és a keringő CLA+CD3+, illetve CLA+CD4+ T-sejtek száma között, mely jelenséget a tünetprovokáló T-sejtek súlyosság függvényében történő cutan extravasatiojával magyaráztak. (48) Langewouters és mtsai. súlyos aktív psoriasisához társultan a keringő lymphocyták abszolút számának szignifikáns csökkenését detektálták enyhe betegség manifesztációval és egészséges, psoriasismentes állapottal összehasonlítva. Ez a megfigyelés, kiegészülve a CD4+ és CD8+ memória (CD45RO+) T-lymphocyták CD4+CD45RA+ és CD8+CD45RA+ naiv T-sejtekhez viszonyított relatív csökkenésével szintén arra utal, hogy az akutan fejlődő plakkok iniciálásában a gyulladásszerű memória T-lymphocyták bőrbe történő kiáramlása valóban meghatározó szerepet játszhat. (175) Ezek a vizsgálati leletek összhangban állnak saját tanulmányunk eredményeivel: a hirtelen kiáramló, bőrben akkumulálódó CLA+ T-lymphocyták egy

komplex pro- és antiinflammatorikus hálózatrendszerbe avatkozva végeredményben a tünetek újbóli fellépését, a plakkok ismételt manifesztálódását okozhatják. Egawa és Kabashima a bőrhöz asszociált lymphoid szövet (SALT) szerepével, valamint a bőrhöz asszociált memória T-sejt populációkkal kapcsolatos tudásanyagot összefoglalva szintén utalnak a bőr, a bőrt elvezető nyirokcsomók és a perifériás keringés közti T-sejt vándorlás fontosságára a bőr gyulladásos folyamataiban. A gyulladás kialakulásában az egyik kulcslépésként mutatják be a bőr Tem sejtjeinek Tcm sejtekké történő konverzióját a SALT-ban bekövetkező aktiváció hatására. A generálódó Tcm sejtek részben a nyirokcsomókba, részben a vérkeringésbe jutva ismételt antigén expozíció alkalmával visszaalakulnak Tem sejtekké, s tömegesen áramolnak ki a bőrbe, a gyulladás lezajlásának hatékony támogatóiként. A komplex körfolyamat nem minden részletében ismert, ám a T-sejt vándorlás dinamikája, iránya figyelemre méltó hasonlóságot mutat saját vizsgálati eredményeinkkel. (183)

Végül a klinikai exacerbatiót és a hozzá társuló expressziós tendenciát vizsgálva számításba vettük egy a háttérben esetlegesen megbújó, provokáló faktor lehetőségét is. A legtöbb hivatkozás a Streptococcus infekciók psoriasis indukáló tulajdonságának vonatkozásában lelhető fel. (54, 58, 184, 185, 186) E téren Davison és mtsai. például a streptococcalis szuperantigének pathogenetikai jelentőségének lehetőségét vetették fel vizsgálati eredményük alapján: Aktív guttált psoriasisos betegeknél egészséges kontrollokhoz viszonyítva a perifériás mononukleáris sejtek szignifikánsan fokozott proliferációs válaszkészséget mutattak in vitro hozzáadott Streptococcus szuperantigénekre. Ugyanezen sejtek CLA+ csoportjában a stimuláció előtt szignifikánsan emelkedett mértékben detektálták a szuperantigén aktivációra jellemző V β 2 és V β 17 T-sejt receptor láncok kifejeződését, s a proliferációs válaszkészség pozitívan korrelált az A és C típusú streptococcalis pyrogén exotoxinra (SPEA, SPEC) reaktív V β 2 lánc expressziójával. (187) Hasonlóképpen a Streptococcus infekció triggerelő szerepét támasztották alá Diluvio és mtsai., bár ők a fertőzés és a psoriasis kapcsolatának kialakulását sokkal inkább konvencionális antigének és nem szuperantigének által megalapozott folyamatnak véleményezték. A munkacsoport tonsillectomián átesett psoriasisos betegeknél, akiknél a bőrtünetek exacerbatioja egyértelműen kapcsolatba volt hozható a krónikus tonsillitis akut fellángolásaival, a plakkokban és a tonsillákban ugyanazon T-sejt klónok jelenlétét mutatta ki. Egy

betegnél ezek a típusos T-sejt klónok kizárólag a CLA⁺ T-lymphocytá csoportban voltak detektálhatók. Mindezek alapján feltételezték, hogy a Streptococcus angina által biztosított krónikus antigénexpozíció a tonsillaris T-sejtek egy csoportját megjelölve a psoriasis pathogén T-lymphocytáinak állandó, folyamatos forrása lehet. (59) Jó néhány év elteltével Thorleifsdottir és mtsai. az első randomizált prospektív tanulmány eredményeként igazolták a tonsillectomia kedvező hatását a psoriasis kimenetelére. Szignifikáns korrelációt találtak a klinikai javulás mértéke, illetve a streptococcalis M protein és a humán keratinmolekulák közös fehérje alegységeire reagáló perifériás T-sejtek számbeli csökkenése között, egy újabb bizonyítékot szolgáltatva a bakteriális antigénprovokáció psoriasisban betöltött szerepére. (188) Lévén a TNF- α a fertőzés által kiváltott gyulladás kulcsfontosságú eleme, biológikumokkal történő gátlása elősegítheti a pathogén ágens proliferációját, ami ismertén a típusos szimptomák megjelenéséhez vezethet. Egy lappangó gócfertőzés a TNF- α társuló nagyobb mennyiségével (189, 190, 191, 192) magyarázhatja az emelkedett kezdeti CLA szintet, TNF- α gátlást követő aktivációja pedig a CLA⁺ T-sejtek perifériás mennyiségének észlelt alakulását.

6.4. A Pearson-féle korreláció analízis eredménye

A kétmintás T-próbával eltérő irányú, szignifikáns mértékű CLA expressziós változásokat találtunk a „responder” és a „relapsing” betegcsoportban az iniciációs kezelési periódus első 6 hetét vizsgálva. Mivel két változó mennyiség kapcsolatának egyértelmű jellemzésére a korreláció analízis a legelfogadottabb statisztikai módszer, ennek segítségével analizáltuk a teljes betegpopuláció valamennyi adatát összesítetten felhasználva a PASI és a CLA változások mint statisztikai változó paraméterek kölcsönös függőségének potenciális lehetőségét. Meg kellett határoznunk, hogy a „responder” és „relapsing” betegek szétválasztása nélkül, valamennyi páciens együttvéve is van-e szignifikáns asszociáció a klinikai kép és a CLA alakulása között. A hosszú távú terápiás válaszkészségre utaló PASI változás (a 12. és 24. hét között) szignifikáns negatív, mérsékelten erős korrelációt mutatott a T-próbával azonosított,

szignifikáns CLA szint emelkedéssel/csökkenéssel jellemzett időintervallumok CLA változásának (CLA 0.-6. hét, CLA 2.-6. hét) mértékével. Ez az eredmény megerősítette a kétmintás T-próba vizsgálati adatait: A CLA expresszió szignifikáns növekedése a kezelés 0. és 2., és következményesen 0. és 6. hete között a PASI hosszú távú csökkenésének, valamint a CLA szignifikáns csökkenése a 2. és 6. hét között a PASI ismételt emelkedésének, s így a klinikai relapsusnak korai jelzője lehet.

6.5. Az egészséges kontrollok és a psoriasisos betegcsoport CLA expressziójának összehasonlítása

A kontroll csoport egyszer mért és a psoriasisos betegek kiindulási, kezelés előtti CLA expressziója között szignifikáns különbséget nem találtunk. A szignifikancia hiánya az alábbiakból lehet eredeztethető:

Nemcsak gyulladásoz kórállapotokban, hanem egészséges egyének perifériás keringésében is normál, fiziológiás körülmények között nagy számban jelen vannak a bőrbe vándorló CLA+ T-lymphocyták. Inflammációmentes, nyugalmi állapotban a CLA+ T-lymphocyták mintegy 2%-a a vérkeringésben található, s összességében véve a keringő T-sejtek 10-15%-a CLA+ T-lymphocytá. (27, 37)

Másfelől a psoriasisos tünetek kialakulása és fenntartása épp a kiáramló T-sejtpopulációhoz kapcsolható. (8, 12, 181, 182) Vagyis a keringő T-sejtek nagy része a psoriasisos betegekben a véráramból a bőrbe extravasalódik, s ez is a két csoport (kontroll és beteg) CLA expressziós értékeinek közeledését eredményezheti. Mi több, részben ez utóbbi felelhet talán azért is, hogy egyetlen expressziós rátánál, a CLA+CD4+ T-sejtek analízisekor szignifikánsan alacsonyabb CLA értékeket detektáltunk a psoriasisos betegkörben („responderek” és összes beteg) az egészséges kontrollokhoz viszonyítva.

7. Következtetések

A célkitűzésekben megfogalmazott kérdéseinkre az elvégzett vizsgálatok alapján az alábbi válaszokat fogalmaztuk meg:

1. Az egészséges kontrollok CLA értékei és a psoriasisos betegek kezelés előtti CLA expressziója között szignifikáns eltérés nem mutatkozott. (Kivéve a CLA+CD4+ T-sejtek analízisét, ahol szignifikánsan magasabb volt a CLA expresszió a kontroll csoportban, mind a javuló betegek, mind a teljes betegcsoport értékeihez viszonyítva.)
2. A kezelésre tartósan jól reagáló („responder”) és a későbbiekben kifejezett exacerbációt mutató („relapsing”) betegek kiindulási perifériás CLA expressziója között szignifikáns különbséget nem találtunk. Jóllehet, a „relapsing” csoport értékei lényegesen, de nem szignifikánsan magasabbak voltak a „responder” betegek értékeivel összehasonlítva, melynek potenciális magyarázatául egy háttérben lévő, provokáló góc fennállásának lehetőségét jelöltük meg.
3. Szignifikáns különbséget észleltünk a két betegcsoport CLA expressziójának alakulása között a terápia iniciációs fázisában. A „responderek” CLA expressziója szignifikánsan emelkedett az első 2 hét során, majd további, (a CLA CD8+ Tlymph% kivételével) nem szignifikáns mértékű emelkedést mutatott a 2. és a 6. hét között. A „relapsing” páciensek értékei az első 2 hétben tapasztalt, enyhe fokú növekedést követően szignifikánsan csökkentek (CLA tot%, CLA lymph%) a 2. héttől a 6. hétig.
4. Pearson-féle korreláció analízis segítségével szignifikánsan negatív, mérsékelten erős korrelációt igazoltunk a hosszú távú terápiás választ tükröző PASI változás (PASI 12. hét vs. 24. hét) és a kezelés iniciációs periódusában mért CLA expressziós változások (CLA 0. hét vs. 6. hét és CLA 2. hét vs. 6. hét) között. Eszerint a PASI és a CLA ellentétes irányú alakulása egymástól függő változók.
5. Vizsgálatunk eredményeit összesítve arra az alapvető következtetésre juthatunk, hogy a CLA a T-sejtek bőrspecifikus homing molekulájaként a súlyos

psoriasisban szenvedő betegek TNF- α gátló kezelésének könnyen és relatíve olcsón vizsgálható, hiteles prediktív markere lehet.

A vizsgálatba bevont páciensek klinikai háttér analízise, vagyis a kezelés kimenetelét szintén módosítani képes faktorok (pl. a betegség számadatokkal jellemzett súlyossága, a fennállás időtartama a terápia megkezdése előtt) tanulmányozása további megerősítéssel szolgál a CLA független prediktív fontosságát illetően. Az általános érvénnyel elfogadott prediktív faktor hiányának ismeretében úgy véljük, hogy vizsgálati adataink elsődleges jelentősége egy új, adekvát módszer megalapozásában rejlik, mely a psoriasis legkorszerűbb kezelésmódjának hosszú távú eredményességét hivatott hitelesen előre jelezni. Megfigyeléseink birtokában a tartós tünetmentesség vagy az esetleges relapszus predikciójához a perifériás CLA expresszió mérését javasoljuk az anti-TNF- α terápia indítása előtt, majd az iniciációs periódus 2. és 6. hetében. A kivitelezett vizsgálati munka esetleges limitációi között kell megemlítenünk a páciensek, és ezen belül is a „relapsing” betegek csekély számát, mely utóbbi a terápiás hatékonyság ismert megoszlási arányának megfelelően alakult; továbbá, hogy a CLA expressziós méréseket egyelőre csak perifériás vérmintákon vizsgáltuk, bőrmintákon nem végeztünk párhuzamos analízist. A jelenlegi reményt keltő eredmények megerősítésére és gyarapítására mindenképp hasznosnak tartanánk és tervezzük a későbbiekben újabb betegek bevonásával a kapott adatok fokozatos bővítését. A pathogenezis és a terápiás válaszkészség molekuláris szinten megvalósuló összefüggésének további felismerései pedig kétséget kizáróan segíthetnek a tárgyalta expressziós változások hátterében lévő mechanizmusoknak, s az általunk vázolt elméleti megfontolásoknak a tisztázásában.

8. Összefoglalás

A psoriasis az egyik leggyakoribb immunmediálta gyulladásoz kórkép, a népesség 2-3%-át érinti. A magas prevalencia, a kórkép társbetegségekkel szövődő, szisztémás jellege, valamint a páciensek pszichés teherviselése együttesen indokolják a pathogenetikai háttér feltárását és a terápiai lehetőségek fejlesztését célzó, intenzív kutatásokat. Középsúlyos-súlyos psoriasisban a szelektív hatásmechanizmuson alapuló biologikumok jelentik a legspecifikusabb és leghatékonyabb kezelésmódot. A kimagasló siker vitathatatlan ténye mellett azonban nem hagyható figyelmen kívül a hatásvesztés és az esetenként akár súlyos mellékhatások reális lehetősége. A biztonságos, eredményes kezelés igénye, illetve a magas költségekből adódó finanszírozási szempontok prediktív biomarkerek klinikai gyakorlatba történő bevezetését sürgetik, melyek könnyen, relatíve kis költséggel vizsgálhatók, és hitelesen képesek előrevetíteni a biológiai terápiaók hosszú távú eredményességét.

Dolgozatom központi témája a cutan lymphocya-asszociált antigén (CLA), egy a pathogenezisben kulcsfontosságú, a T-lymphocyták bőrspecifikus migrációját biztosító homing molekula prediktív szerepének analízálása TNF- α gátló kezelés során. Az elméleti háttér bevezetőben történő tárgyalását, a CLA pathogenetikai jelentőségének több irányból történő megközelítését követően ismertetem kutatómunkánkat. 38, súlyos, krónikus psoriasisban szenvedő beteg meghatározott időpontokban gyűjtött perifériás vérmintáiból áramlási citometriai módszerrel meghatároztuk a lymphocya CLA expresszió mértékét. Az iniciációs kezelési periódusban detektált CLA expressziós értékek szignifikánsan eltérő tendenciát mutattak a tartósan stabil klinikai válaszkészséget prezentáló „responder” és a fenntartó terápia alatt relapszust elszenvedő „relapsing” betegcsoportban. A „responderek” CLA értékei a kezelés első 6 hetében szignifikánsan emelkedtek, míg a „relapsing” betegeknel a kezdeti enyhe emelkedést követően szignifikáns csökkenést találtunk a 2. és a 6. hét között. Az elvégzett korreláció analízis megerősítette a CLA expresszió és a klinikai válaszkészség közötti szignifikáns kapcsolat fennállását. Mindezek alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a CLA potenciális prediktív markere lehet a középsúlyos/súlyos psoriasisban alkalmazott TNF- α gátló biológiai válaszmódosító kezeléseók hosszú távú eredményességének.

9. Summary

Psoriasis as one of the most common immune-mediated inflammatory diseases affects 2-3% of the population. The high prevalence and the recently identified systemic nature of the disease, as well as the psychic, mental burden of the patients necessitate complete exploration of the pathogenetic background and intense research of therapeutic innovations. According to our current knowledge biologics with a selective mode of action represent the most specific and effective therapeutic option in the management of moderate to severe psoriasis. In spite of their outstanding undoubted success we still have to consider real possibility of the loss of effectiveness and the drug-related, even serious adverse events. The demand for safe and efficient treatment of the patients as well as financial aspects resulting from the high costs of biologics urge application of predictive biomarkers in everyday clinical practice which can be measured by relatively low costs and which are able to reliably forecast long-term therapeutic effectiveness.

The dissertation contains a detailed analysis of the possible predictive role of cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA), a key skin-specific homing molecule of T-cells in the pathogenesis of psoriasis, in TNF- α inhibitor therapy. The theoretical background -explicated in the "Introduction"- with detailed description of CLA's multiple pathogenetic importance is followed by review of our investigation. Lymphocyte CLA expression was measured by flow cytometry in peripheral blood samples obtained from 38 chronic severe psoriatic patients in well-defined time points of the treatment. The expression values measured in the initial treatment period showed significantly different tendencies in the "responder" (with long-lasting, stable clinical responsiveness) and "relapsing" (with prominent clinical relapse) patient groups. CLA expression of the responders was significantly increasing in the first 6 weeks. While in the relapsing group a slight increase in the first 2 weeks was followed by a significant decline between weeks 2 and 6. Correlation analysis confirmed the significant correlation between CLA expression changes and long-term clinical responsiveness. Based on our results and theoretical considerations we conclude that CLA can be a potential predictive marker of the long-term effectiveness of TNF- α inhibitor biologic response modifiers applied in moderate to severe psoriasis.

10. Irodalomjegyzék

- 1.Mrowietz U, Reich K. (2009) Psoriasis--new insights into pathogenesis and treatment. *Dtsch Arztebl Int*, 106: 11-18.
- 2.Elder JT, Bruce AT, Gudjonsson JE, Johnston A, Stuart PE, Tejasvi T, Voorhees JJ, Abecasis GR, Nair RP. (2010) Molecular dissection of psoriasis: integrating genetics and biology. *J Invest Dermatol*, 130: 1213-1226.
- 3.Christophers E. (2008) Explaining phenotype heterogeneity in patients with psoriasis. *Br J Dermatol*, 158: 437-441.
- 4.Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. (2009) Psoriasis. *N Engl J Med*, 361: 496-509.
- 5.Robersom EDO, Bowcock AM. (2010) Psoriasis genetics: breaking the barrier. *Trends Genet*, 26: 415-423.
- 6.Bowcock AM, Krueger JG. (2005) Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. *Nat Rev Immunol*, 5: 699-711. (Erratum, *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 826.)
- 7.Hébert HL, Ali FR, Bowes J, Griffiths CEM, Barton A, Warren RB. (2012) Genetic susceptibility to psoriasis and psoriatic arthritis: implications for therapy. *Br J Dermatol*, 166: 474-482.
- 8.Krueger G, Ellis CN. (2005) Psoriasis-recent advances in understanding its pathogenesis and treatment. *J Am Acad Dermatol*, 53: 94-100.
- 9.Duffin KC, Krueger GG. (2009) Genetic variations in cytokines and cytokine receptors associated with psoriasis found by genome-wide association. *J Invest Dermatol*, 129: 827-833.
- 10.Peternel S, Kastelan M. (2009) Immunopathogenesis of psoriasis: focus on natural killer cells. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 23: 1123-1127.
- 11.Nogralés KE, Davidovici B, Krueger JG. (2010) New insights in the immunologic basis of psoriasis. *Semin Cutan Med Surg*, 29: 3-9.
- 12.Coimbra S, Figueiredo A, Castro E, Rocha-Pereira P, Santos-Silva A. (2012) The roles of cells and cytokines in the pathogenesis of psoriasis. *Int J Dermatol*, 51: 389-398.
- 13.Guttman-Yassky E, Nogralés KE, Krueger JG. (2011) Contrasting pathogenesis of atopic dermatitis and psoriasis-Part II: Immune cell subsets and therapeutic concepts. *J Allergy Clin Immunol*, 127: 1420-1432.

14. Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, Nickoloff BJ. (2009) Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 9: 679-691.
15. Tonel G, Conrad C. (2009) Interplay between keratinocytes and immune cells- Recent insights into psoriasis pathogenesis. *Int J Biochem Cell Biol*, 41: 963-968.
16. Bos JD, de Rie MA, Teunissen MBM, Piskin G. (2005) Psoriasis: dysregulation of innate immunity. *Br J Dermatol*, 152: 1098-1107.
17. Kunz M, Ibrahim SM. (2009) Cytokines and cytokine profiles in human autoimmune diseases and animal models of autoimmunity. *Mediators Inflamm*, 2009: 979258.
18. Han G, Williams CA, Salter K, Garl PJ, Li AG, Wang XJ. (2010) Role of TGF β signaling in the pathogenesis of psoriasis. *J Invest Dermatol*, 130: 371-377.
19. Han G, Li F, Singh TP, Wof P, Wang XJ. (2012) The pro-inflammatory role of TGF β 1: a paradox? *Int J Biol Sci*, 8: 228-235.
20. Valdimarsson H, Thorleifsdottir RH, Sigurdardottir SL, Gudjonsson JE, Johnston A. (2009) *Trends Immunol*, 30: 494-501.
21. Heidenreich R, Röcken M, Ghoreschi K. (2009) Angiogenesis drives psoriasis pathogenesis. *Int J Exp Pathol*, 90: 232-248.
22. Clark RA. (2010) Skin resident T cells: the ups and downs of on site immunity. *J Invest Dermatol*, 130: 362-370.
23. Woodland DL, Kohlmeier JE. (2009) Migration, maintenance and recall of memory T cells in peripheral tissues. *Nat Rev Immunol*, 9: 153-161.
24. McCully ML, Ladell K, Hakobyan S, Mansel RE, Price DA, Moser B. (2012) Epidermis instructs skin homing receptor expression in human T cells. *Blood*, 120: 4591-4598.
25. Mora JR, Bono MR, Manjunath N, Weninger W, Cavanagh LL, Roseblatt M, Von Andrian UH. (2003) Selective imprinting of gut-homing T cells by Peyer's patch dendritic cells. *Nature*, 424: 88-93.
26. DeNucci CC, Mitchell JS, Shimizu Y. (2009) Integrin function in T cell homing to lymphoid and non-lymphoid sites: getting there and staying there. *Crit Rev Immunol*, 29: 87-109.

27. Clark RA, Chong B, Mirchandani N, Brinster NK, Yamanaka K, Dowgiert RK, Kupper TS. (2006) The vast majority of CLA⁺ T cells are resident in normal skin. *J Immunol*, 176: 4431-4439.
28. Gebhardt T, Mueller SN, Heath WR, Carbone FR. (2013) Peripheral tissue surveillance and residency by memory T cells. *Trends Immunol*, 34: 27-32.
29. Sigmundsdottir H. (2010) Improving topical treatments for skin diseases. *Trends Pharmacol Sci*, 31: 239-245.
30. Sigmundsdottir H, Butcher EC. (2008) Environmental cues, dendritic cells and the programming of tissue-selective lymphocyte trafficking. *Nat Immunol*, 9: 981-987.
31. Santamaria-Babí LF. (2004) CLA⁺ T cells in cutaneous diseases. *Eur J Dermatol*, 14: 13-18.
32. Mohan K, Cordeiro E, Vaci M, McMaster C, Issekutz TB. (2005) CXCR3 is required for migration to dermal inflammation by normal and in vivo activated T cells: differential requirements by CD4 and CD8 memory subsets. *Eur J Immunol*, 35: 1702-1711.
33. Santamaria Babi LF, Moser R, Perez Soler MT, Picker LJ, Blaser K, Hauser C. (1995) Migration of skin-homing T cells across cytokine-activated human endothelial cell layers involves interaction of the cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA), the very late antigen-4 (VLA-4), and the lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1). *J Immunol*, 154: 1543-1550.
34. Ohmori K, Fukui F, Kiso M, Imai T, Yoshie O, Hasegawa H, Matsushima K, Kannagi R. (2006) *Blood*, 107: 3197-3204.
35. Ni Z, Walcheck B. (2009) Cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) T cells up-regulate P-selectin ligand expression upon their activation. *Clin Immunol*, 133: 257-264.
36. Fuhlbrigge RC, King SL, Sackstein R, Kupper TS. (2006) CD43 is a ligand for E-selectin on CLA⁺ human T cells. *Blood*, 107: 1421-1426.
37. Robert C, Kupper TS. (1999) Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance. *N Engl J Med*, 341: 1817-1828.
38. Nakayama F, Teraki Y, Kudo T, Togayachi A, Iwasaki H, Tamatani T, Nishihara S, Mizukawa Y, Shiohara T, Narimatsu H. (2000) Expression of cutaneous

- lymphocyte-associated antigen regulated by a set of glycosyltransferases in human T cells: involvement of α 1,3-fucosyltransferase VII and β 1,4-galactosyltransferase I. *J Invest Dermatol*, 115: 299-306.
39. Magro CM, Dyrsen ME. (2003) Cutaneous lymphocyte antigen expression in benign and neoplastic cutaneous B- and T-cell lymphoid infiltrates. *J Cutan Pathol*, 35: 1040-1049.
40. Chen GY, Osada H, Santamaria-Babi LF, Kannagi R. (2006) Interaction of GATA-3/T-bet transcription factors regulates expression of sialyl Lewis X homing receptors on Th1/Th2 lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103: 16894-16899.
41. Santamaria LF, Torres R, Giménez-Arnau AM, Giménez-Camarasa JM, Ryder H, Palacios JM, Beleta J. (1999) Rolipram inhibits staphylococcal enterotoxin B-mediated induction of the human skin-homing receptor on T lymphocytes. *J Invest Dermatol*, 113: 82-86.
42. Yamanaka KI, Kakeda M, Kitagawa H, Tsuda K, Akeda T, Kurokawa I, Gabazza EC, Kupper TS, Mizutani H. (2010) 1,24-Dihydroxyvitamin D₃ (tacalcitol) prevents skin T-cell infiltration. *Br J Dermatol*, 162: 1206-1215.
43. López-Lerma I, Estrach MT. (2010) Comparative analysis of the expression of cell adhesion molecules in cutaneous T-cell lymphomas (Mycoses Fungoides/Sézary Syndrome) and inflammatory skin diseases. *Actas Dermosifiliogr*, 101: 866-877.
44. Teraki Y, Miyake A, Takebayashi R, Shiohara T. (2004) Homing receptor and chemokine receptor on intraepidermal T cells in psoriasis vulgaris. *Clin Exp Dermatol*, 29: 658-663.
45. Rottman JB, Smith TL, Ganley KG, Kikuchi T, Krueger JG. (2001) Potential role of the chemokine receptors CXCR, CCR4, and the integrin α E β 7 in the pathogenesis of psoriasis vulgaris. *Lab Invest*, 81: 335-347.
46. Friedrich M, Krammig S, Henze M, Döcke WD, Sterry W, Asadullah K. (2000) Flow cytometric characterization of lesional T cells in psoriasis: intracellular cytokine and surface antigen expression indicates an activated, memory/effector type 1 immunophenotype. *Arch Dermatol Res*, 292: 519-521.

47. Pitzalis C, Cauli A, Pipitone N, Smith C, Barker J, Marchesoni A, Yanni G, Panayi GS. (1996) Cutaneous lymphocyte antigen-positive T lymphocytes preferentially migrate to the skin but not to the joint in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum*, 39: 137-145.
48. Ferran M, Giménez-Arnau AM, Bellosillo B, Pujol RM, Santamaria-Babi LF. (2008) Circulating CLA+ T cell subsets inversely correlate with disease severity and extension in acute psoriasis but not in chronic plaque psoriasis. *Eur J Dermatol*, 18: 647-650.
49. Pont-Giralt M, Giménez-Arnau AM, Pujol RM, Santamaria-Babi LF. (2006) Circulating CLA+ T cells from acute and chronic psoriasis patients manifest a different activation state and correlation with disease severity and extension. *J Invest Dermatol*, 126: 227-228.
50. Sigmundsdóttir H, Gudjónsson JE, Jónsdóttir I, Lúdvíksson BR, Valdimarsson H. (2001) The frequency of CLA+ CD8+ T cells in the blood of psoriasis patients correlates closely with the severity of their disease. *Clin Exp Immunol*, 126: 365-369.
51. Ferran M, Galván AB, Giménez-Arnau A, Pujol RM, Santamaría-Babia LF. (2010) Production of interleukin 8 by circulating CLA+ T cells with skin tropism in patients with psoriasis and in healthy controls. *Actas Dermosifiliogr*, 101: 151-155.
52. Ferran M, Giménez-Arnau AM, Bellosillo B, Pujol RM, Santamaría-Babi LF. (2008) Effector function of CLA+ T lymphocytes on autologous keratinocytes in psoriasis. *Actas Dermosifiliogr*, 99: 701-707.
53. Ferran M, Galván AB, Rincón C, Romeu ER, Sacrista M, Barboza E, Giménez-Arnau A, Celada A, Pujol RM, Santamaria-Babí LF. (2013) Streptococcus induces circulating CLA+ memory T-cell-dependent epidermal cell activation in psoriasis. *J Invest Dermatol* 133: 999-1007.
54. Prinz JC. (2009) Bedeutung von Streptokokken für die Psoriasispathogenese. *Hautarzt*, 60: 109-115.
55. Whyte JH, Baughman RD, Hanover NH. (1964) Acute guttate psoriasis and streptococcal infection. *Arch Dermatol*, 89: 350-356.

56. Telfer NR, Chalmers RJ, Whale K, Colman G. (1992) The role of streptococcal infection in the initiation of guttate psoriasis. *Arch Dermatol*, 128: 39-42.
57. Mallon E, Bunce M, Savoie H, Rowe A, Newson R, Gotch F, Bunker CB. (2000) HLA-C and guttate psoriasis. *Br J Dermatol*, 143: 1177-1182.
58. Weisenseel P, Laumbacher B, Besgen P, Ludolph-Hauser D, Herzinger T, Roecken M, Wank R, Prinz JC. (2002) Streptococcal infection distinguishes different types of psoriasis. *J Med Genet*, 39: 767-768.
59. Diluvio L, Vollmer S, Besgen P, Ellwart JW, Chimenti S, Prinz JC. (2006) Identical TCR β -chain rearrangements in streptococcal angina and skin lesions of patients with psoriasis vulgaris. *J Immunol*, 176: 7104-7111.
60. Zollner TM, Munk ME, Keller T, Nuber V, Boehncke WH, Kaufmann SH, Duijvestijn AM, Sterry W, Kaufmann R. (1996) The superantigen exfoliative toxin induces cutaneous lymphocyte-associated antigen expression in peripheral human T lymphocytes. *Immunol Lett*, 49: 111-116.
61. Nozawa H, Kishibe K, Takahara M, Harabuchi Y. (2005) Expression of cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) in tonsillar T-cells and its induction by in vitro stimulation with alpha-streptococci in patients with pustulosis palmaris et plantaris (PPP). *Clin Immunol*, 116: 42-53.
62. Talanin NY, Shelley WB, Raeder R, Shelley ED, Boyle MD. (1997) Detection of streptococcal class I M protein in psoriasis by confocal immunofluorescent microscopy. *Acta Derm Venereol*, 77: 175-180.
63. Baker BS, Laman JD, Powles A, van der Fits L, Voerman JS, Melief MJ, Fry L. (2006) Peptidoglycan and psoriasis-specific Th1 cells in psoriatic skin lesions. *J Pathol*, 209: 174-181.
64. Sabat R, Philipp S, Höflich C, Kreutzer F, Wallace E, Asadullah K, Volk HD, Sterry W, Wolk K. (2007) Immunopathogenesis of psoriasis. *Exp Dermatol*, 16: 779-798.
65. Johnston A, Gudjonsson JE, Sigmundsdottir H, Love TJ, Valdimarsson H. (2004) Peripheral blood T cell responses to keratin peptides that share sequences with streptococcal M proteins are largely restricted to skin-homing CD8⁺ T cells. *Clin Exp Immunol*, 138: 83-93.

- 66.Lew W, Bowcock AM, Krueger JG. (2004) Psoriasis vulgaris: cutaneous lymphoid tissue supports T-cell activation and 'Type 1' inflammatory gene expression. *Trends Immunol*, 25: 295-305.
- 67.Reddy M, Davis C, Wong J, Marsters P, Pendley C, Prabhakar U. (2007) Modulation of CLA, IL-12R, CD40L, and IL-2Ralpha expression and inhibition of IL-12- and IL-23- induced cytokine secretion by CNTO 1275. *Cell Immunol*, 247: 1-11.
- 68.Picker LJ, Treer JR, Ferguson-Darnell B, Collins PA, Bergstresser PR, Terstappen LW. (1993) Control of lymphocyte recirculation in man. II. Differential regulation of the cutaneous lymphocyte-associated antigen, a tissue-selective homing receptor for skin-homing T cells. *J Immunol*, 150: 1122-1136.
- 69.McFadden JP, Baker BS, Powles AV, Fry L. (2009) Psoriasis and streptococci: the natural selection of psoriasis revisited. *Br J Dermatol*, 160: 929-937.
- 70.Ferran M, Santamaria-Babi LF. (2010) Pathological mechanisms of skin homing T cells in atopic dermatitis. *World Allergy Organ J*, 3: 44-47.
- 71.Santamaria Babi LF, Picker LJ, Perez Soler MT, Drzimalla K, Flohr P, Blaser K, Hauser C. (1995) Circulating allergen-reactive T cells from patients with atopic dermatitis and allergic contact dermatitis express the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen. *J Exp Med*, 181: 1935-1940.
- 72.Teraki Y, Hotta T, Shiohara T. (2000) Increased circulating skin-homing cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA)+ type 2 cytokine-producing cells, and decreased CLA+ type 1 cytokine-producing cells in atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 143: 373-378.
- 73.Akdis M, Trautmann A, Klunker S, Daigle I, Kucuksezer UC, Deglmann W, Disch R, Blaser K, Akdis CA. (2003) T helper (Th) 2 predominance in atopic diseases is due to preferential apoptosis of circulating memory/effector Th1 cells. *FASEB J*, 17: 1026-1035.
- 74.Bilsborough J, Leung DYM, Maurer M, Howell M, Boguniewicz M, Yao L, Storey H, LeCiel C, Harder B, Gross JA. (2006) IL-31 is associated with cutaneous lymphocyte antigen-positive skin homing T cells in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 117: 418-425.

75. Mizukawa Y, Takahashi R, Yamazaki Y, Kimishima M, Shiohara T. (2007) Fucosyltransferase VII-positive, skin-homing T cells in the blood and skin lesions of atopic dermatitis patients. *Exp Dermatol*, 17: 170-176.
76. Akdis M, Klunker S, Schliz M, Blaser K, Akdis CA. (2000) Expression of cutaneous lymphocyte associated antigen on human CD4+ and CD8+ Th2 cells. *Eur J Immunol*, 30: 3533-3541.
77. Hamid Q, Boguniewicz M, Leung DYM. (1994) Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest*, 94: 870-876.
78. Thepen T, Langeveld-Wildschut EG, Bihari IC, van Vichen DF, Van Reijssen FC, Mudde GC, Bruijnzeel-Koomen CAFM. (1996) Biphasic response against aeroallergen in atopic dermatitis showing a switch from an initial Th2 response to a Th1 response in situ: an immunohistochemical study. *J Allergy Clin Immunol*, 97: 828-837.
79. Antúnez C, Torres MJ, Mayorga C, Cornejo-García JA, Santamaría-Babi LF, Blanca M. (2004) Different cytokine production and activation marker profiles in circulating cutaneous-lymphocyte-associated antigen + T cells from patients with acute or chronic atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*, 34: 559-566.
80. Davison S, Allen M, Vaughan R, Barker J. (2000) Staphylococcal toxin-induced T cell proliferation in atopic eczema correlates with increased use of superantigen-reactive V β -chains in cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA)-positive lymphocytes. *Clin Exp Immunol*, 121: 181-186.
81. Chong BF, Wong HK. (2007) Immunobiologics in the treatment of psoriasis. *Clin Immunol*. 123: 129-138.
82. Santamaria LF, Perez Soler MT, Hauser C, Blaser K. (1995) Allergen specificity and endothelial transmigration of T cells in allergic contact dermatitis and atopic dermatitis are associated with the cutaneous lymphocyte antigen. *Int Arch Allergy Immunol*, 107: 359-362.
83. Santamaria Babi LF, Perez Soler MT, Hauser C, Blaser K. (1995) Skin-homing T cells in human cutaneous allergic inflammation. *Immunol Res*, 14: 317-324.
84. Stab Jensen C, Lisby S, Larsen JK, Kren Veien N, Menné Torkil. (2004) Characterization of lymphocyte subpopulations and cytokine profiles in

- peripheral blood of nickel-sensitive individuals with systemic contact dermatitis after oral nickel exposure. *Contact Dermatitis*, 50: 31-38.
85. Clark WH Jr, From L, Bernardino EA, Mihm MC. (1969) The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res*, 29: 705-727.
86. Clemente CG, Mihm MC Jr, Bufalino R, Zurrida S, Collini P, Cascinelli N. (1996) Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer*, 77: 1303-1310.
87. Mullins IM, Slingluff CL, Lee JK, Garbee CF, Shu J, Anderson SG, Mayer ME, Knaus WA, Mullins DW. (2004) CXC chemokine receptor 3 expression by activated CD8+ T cells is associated with survival in melanoma patients with stage III disease. *Cancer Res*, 64: 7697-7701
88. Day CL Jr, Sober AJ, Kopf AW, Lew RA, Mihm MC Jr, Hennessey P, Golomb FM, Harris MN, Gumport SL, Raker JW, Malt RA, Cosimi AB, Wood WC, Roses DF, Gorstein F, Postel A, Grier WR, Mintzis MN, Fitzpatrick TB. (1981) A prognostic model for clinical stage I melanoma of the upper extremity. The importance of anatomic subsites in predicting recurrent disease. *Ann Surg*, 193: 436-440.
89. Tuthill RJ, Unger JM, Liu PY, Flaherty LE, Sondak VK. (2002) Risk assessment in localized primary cutaneous melanoma: a Southwest Oncology Group study evaluating nine factors and a test of the Clark logistic regression prediction model. *Am J Clin Pathol*, 118: 504-511.
90. Oble DA, Loewe R, Yu P, Mihm MC Jr. (2009) Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human melanoma. *Cancer Immun*, 9:3.
91. Viguier M, Lemaître F, Verola O, Cho MS, Gorochoy G, Dubertret L, Bachelez H, Kourilsky P, Ferradini L. (2004) Foxp3 expressing CD4+CD25(high) regulatory T cells are overrepresented in human metastatic melanoma lymph nodes and inhibit the function of infiltrating T cells. *J Immunol*, 173: 1444-1453.
92. Adams DH, Yannelli JR, Newman W, Lawley T, Ades E, Rosenberg SA, Shaw S. (1997) Adhesion of tumour-infiltrating lymphocytes to endothelium: a phenotypic and functional analysis. *Br J Cancer*, 75: 1421-1431.

93. Rohde D, Schlüter-Wigger W, Mielke V, von den Driesch P, von Gaudecker B, Sterry W. (1992) Infiltration of both T cells and neutrophils in the skin is accompanied by the expression of endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1): an immunohistochemical and ultrastructural study. *J Invest Dermatol*, 98: 794-799.
94. Weishaupt C, Munoz KN, Buzney E, Kupper TS, Fuhlbrigge RC. (2007) T-cell distribution and adhesion receptor expression in metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*, 13: 2549-2556.
95. Schadendorf D, Heidel J, Gawlik C, Suter L, Czarnetzki BM. (1995) Association with clinical outcome of expression of VLA-4 in primary cutaneous malignant melanoma as well as P-selectin and E-selectin on intratumoral vessels. *J Natl Cancer Inst*, 87: 366-371.
96. Nooijen PT, Westphal JR, Eggermont AM, Schalkwijk C, Max R, de Waal RM, Ruiter DJ. (1998) Endothelial P-selectin expression is reduced in advanced primary melanoma and melanoma metastasis. *Am J Pathol*, 152: 679-682.
97. Quezada SA, Peggs KS, Simpson TR, Shen Y, Littman DR, Allison JP. (2008) Limited tumor infiltration by activated T effector cells restricts the therapeutic activity of regulatory T cell depletion against established melanoma. *J Exp Med*, 205: 2125-2138.
98. Gelb AB, Smoller BR, Warnke RA, Picker LJ. (1993) Lymphocytes infiltrating primary cutaneous neoplasms selectively express the cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA). *Am J Pathol*, 142: 1556-1564.
99. Krieg C, Boyman O. (2009) The role of chemokines in cancer immune surveillance by the adaptive immune system. *Semin Cancer Biol*, 19: 76-83.
100. Clark RA, Huang SJ, Murphy GF, Mollet IG, Hijnen D, Muthukuru M, Schanbacher CF, Edwards V, Miller DM, Kim JE, Lambert J, Kupper TS. (2008) Human squamous cell carcinomas evade the immune response by down-regulation of vascular E-selectin and recruitment of regulatory T cells. *J Exp Med*, 205: 2221-2234.
101. Urošević M, Maier T, Benninghoff B, Slade H, Burg G, Dummer R. (2003) Mechanisms underlying imiquimod-induced regression of basal cell carcinoma in vivo. *Arch Dermatol*, 139: 1325-1332.

102. Verhaegh M, Beljaards R, Veraart J, Hoekzema R, Neumann M. (1998) Adhesion molecule expression in basal cell carcinoma. *Eur J Dermatol*, 8: 252-255.
103. Wei S, Kryczek I, Zou W. (2006) Regulatory T-cell compartmentalization and trafficking. *Blood*, 108: 426-431.
104. Dummer R, Urosevic M, Kempf W, Hoek K, Hafner J, Burg G. (2003) Imiquimod in basal cell carcinoma: how does it work? *Br J Dermatol*. 149 Suppl 66: 57-58.
105. Kovach BT, Stasko T. (2005) Use of topical immunomodulators in organ transplant recipients. *Dermatol Ther*, 18: 19-27.
106. Campbell JJ, Clark RA, Watanabe R, Kupper TS. (2010) Sezary syndrome and mycosis fungoides arise from distinct T-cell subsets: a biologic rationale for their distinct clinical behaviors. *Blood*, 116: 767-771.
107. Pals ST, de Gorter DJ, Spaargaren M. (2007) Lymphoma dissemination: the other face of lymphocyte homing. *Blood*, 110: 3102-3111.
108. Beyer M, Möbs M, Humme D, Sterry W. (2011) Pathogenesis of Mycosis fungoides. *J Dtsch Dermatol Ges*, 9: 594-598.
109. Drillenburg P, Pals ST. (2000) Cell adhesion receptors in lymphoma dissemination. *Blood* 95: 1900–1910.
110. Borowitz MJ, Weidner A, Olsen EA, Picker LJ. (1993) Abnormalities of circulating T-cell subpopulations in patients with cutaneous T-cell lymphoma: cutaneous lymphocyte-associated antigen expression on T cells correlates with extent of disease. *Leukemia*, 7: 859–863.
111. Heald PW, Yan SL, Edelson RL, Tigelaar R, Picker LJ. (1993) Skin-selective lymphocyte homing mechanisms in the pathogenesis of leukemic cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol*, 101: 222–226.
112. Ogg GS, Dunbar PR, Romero P, Chen JL, Cerundolo V. (1998) High frequency of skin-homing melanocyte-specific cytotoxic T lymphocytes in autoimmune vitiligo. *J Exp Med*, 188: 1203-1208.
113. Antelo DP, Filgueira AL, Cunha JM. (2011) Reduction of skin-homing cytotoxic T cells (CD8+-CLA+) in patients with vitiligo. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 27: 40-44.

114. Fuschiotti P, Larregina AT, Ho J, Feghali-Bostwick C, Medsger TA Jr. (2013) Interleukin-13-producing CD8⁺ T cells mediate dermal fibrosis in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*, 65: 236-246.
115. Engelhardt BG, Jagasia M, Savani BN, Bratcher NL, Greer JP, Jiang A, Kassim AA, Lu P, Schuening F, Yoder SM, Rock MT, Crowe Jr JE. (2011) Regulatory T cell expression of CLA or $\alpha 4\beta 7$ and skin or gut acute GVHD outcomes. *Bone Marrow Transplant*, 46: 436-442.
116. Engelhardt BG, Sengsayadeth SM, Jagasia M, Savani BN, Kassim AA, Lu P, Shyr Y, Yoder SM, Rock MT, Crowe JE Jr. (2012) Tissue-specific regulatory T cells: biomarker for acute graft-vs-host disease and survival. *Exp Hematol*, 40: 974-982.
117. Cabrijan L, Lipozencić J, Batinac T, Lenković M, Stanić Zgombić Z. (2008) Influence of PUVA and UVB radiation on expression of ICAM-1 and VCAM-1 molecules in psoriasis vulgaris. *Coll Antropol*, 32: 53-56.
118. Cai JP, Harris K, Falanga V, Taylor JR, Chin YH. (1996) UVB therapy decreases the adhesive interaction between peripheral blood mononuclear cells and dermal microvascular endothelium, and regulates the differential expression of CD54, VCAM-1, and E-selectin in psoriatic plaques. *Br J Dermatol*, 134: 7-16.
119. Sigmundsdottir H, Gudjonsson JE, Valdimarsson H. (2003) The effects of ultraviolet B treatment on the expression of adhesion molecules by circulating T lymphocytes in psoriasis. *Br J Dermatol*, 148: 996-1000.
120. Soyland E, Heier I, Rodríguez-Gallego C, Mollnes TE, Johansen FE, Holven KB, Halvorsen B, Aukrust P, Jahnsen FL, de la Rosa Carrillo D, Krogstad AL, Nenseter MS. (2011) Sun exposure induces rapid immunological changes in skin and peripheral blood in patients with psoriasis. *Br J Dermatol*, 164: 344-355.
121. Sigmundsdottir H, Johnston A, Gudjonsson JE, Valsimarsson H. (2005) Narrowband-UVB irradiation decreases the production of pro-inflammatory cytokines by stimulated T cells. *Arch Dermatol Res*, 297: 39-42.
122. Singh TP, Schön MP, Wallbrecht K, Wolf P. (2012) 8-Methoxypsoralen plus UVA treatment increases the proportion of CLA⁺ CD25⁺ CD4⁺ T cells in lymph nodes of K5.hTGF β 1 transgenic mice. *Exp Dermatol*, 21: 221-235.

- 123.Holló P, Marschalkó M, Temesvári E, Gonzalez R, Hársing J, Horváth A. (2005) Follow-up analysis of circulating mononuclear cell CLA expression in patients with psoriasis. *J Dermatol Sci*, 39: 131-133.
- 124.Sigmundsdottir H, Johnston A, Gudjonsson JE, Bjarnason B, Valdimarsson H. (2004) Methotrexate markedly reduces the expression of vascular E-selectin, cutaneous lymphocyte-associated antigen and the numbers of mononuclear leucocytes in psoriatic skin. *Exp Dermatol*, 13: 426-434.
- 125.Johnston A, Gudjonsson JE, Sigmundsdottir H, Ludviksson BR, Valdimarsson H. (2005) The anti-inflammatory action of methotrexate is not mediated by lymphocyte apoptosis, but by the suppression of activation and adhesion molecules. *Clin Immunol*, 114: 154-163.
- 126.Dolhain RJEM, Tak PP, Dijkmans BAC, De Kuiper P, Breedveld FC, Miltenburg AMM. (1998) Methotrexate reduces inflammatory cell numbers, expression of monokines and of adhesion molecules in synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*, 37: 502-508.
- 127.Rentenaar RJ, Heydendael VMR, Van Diepen FNJ, De Rie MA, Ten Berge IJM. (2004) Systemic treatment with either cyclosporin A or methotrexate does not influence the T helper 1/T helper 2 balance in psoriatic patients. *J Clin Immunol*, 24: 361-369.
- 128.Ferrándiz C, Carrascosa JM, Boada A. (2010) A new era in the management of psoriasis? The biologics: facts and controversies. *Clin Dermatol*, 28: 81-87.
- 129.Castelo-Soccio L, Van Voorhees AS. (2009) Long-term efficacy of biologics in dermatology. *Dermatol Ther*, 22: 22-33.
- 130.Pathirana D, Ormerod AD, Saiag P, Smith C, Spuls PI, Nast A, Barker J, Bos JD, Burmester GR, Chimenti S, Dubertret L, Eberlein B, Erdmann R, Ferguson J, Girolomoni G, Gisondi P, Giunta A, Griffiths C, Hönigsmann H, Hussain M, Jobling R, Karvonen SL, Kemeny L, Kopp I, Leonardi C, Maccarone M, Menter A, Mrowietz U, Naldi L, Nijsten T, Ortonne JP, Orzechowski HD, Rantanen T, Reich K, Reytan N, Richards H, Thio HB, van de Kerkhof P, Rzany B. (2009) European S3-guidelines on the systemic treatment of psoriasis vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 23: 1-70.

131. Weger W. (2010) Current status and new developments in the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis with biological agents. *Br J Pharmacol*, 160: 810-820.
132. Stelara ustekinumab EPAR summary for the public, EMA/843004/2009, EMEA/H/C/958., 2010.
133. Laws PM, Warren RB. (2011) Ustekinumab for the treatment of psoriasis. *Expert Rev Clin Immunol*, 7: 155-164.
134. Desai SB, Furst DE. (2006) Problems encountered during anti-tumor necrosis factor therapy. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 20: 757-790.
135. Thielen AM, Kuenzli S, Saurat JH. (2005) Cutaneous adverse events of biological therapy for psoriasis: review of the literature. *Dermatology*, 211: 209-217.
136. Strangfeld A, Listing J. (2006) Bacterial and opportunistic infections during anti-TNF therapy. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 20: 1181-1195.
137. Viganò M, Degasperi E, Aghemo A, Lampertico P, Colombo M. (2012) Anti-TNF drugs in patients with hepatitis B or C virus infection: safety and clinical management. *Expert Opin Biol Ther*, 12: 193-207.
138. Cepeda EJ, Williams FM, Ishimori ML, Weisman MH, Reveille JD. (2008) The use of anti-tumour necrosis factor therapy in HIV-positive individuals with rheumatic disease. *Ann Rheum Dis*, 67: 710-712.
139. Calabrese LH, Zein N, Vassilopoulos D. (2004) Safety of antitumor necrosis factor (anti-TNF) therapy in patients with chronic viral infections: hepatitis C, hepatitis B, and HIV infection. *Ann Rheum Dis*, 63: 18-24.
140. Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. (2006) Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA*, 295: 2275-2285.
141. Faul AC, Folwaczny C, Aigner BA, Hein R, Ring J, Plötz SG. (2013) Psoriatic skin lesions induced by tumor-necrosis-factor-alpha-therapy. *CRCM*, 2: 85-88.
142. Harrison MJ, Dixon WG, Watson KD, King Y, Groves R, Hyrich KL, Symmons DPM. (2009) Rates of new-onset psoriasis in patients with rheumatoid arthritis receiving anti-tumour necrosis factor alpha therapy: results

- from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Ann Rheum Dis*, 68: 209-215.
143. Hasan U. (2006) Tumor necrosis factor inhibitors-what we need to know. *N Z Med J*, 119(1246):U2336.
144. Hyrich KL, Watson KD, Silman AJ, Symmons DPM, and the BSR Biologics Register. (2006) Predictors of response to anti-TNF- α therapy among patients with rheumatoid arthritis: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Rheumatology*, 45: 1558-1565.
145. Eder L, Chandran V, Schentag CT, Shen H, Cook RJ, Gladman DD. (2010) Time and predictors of response to tumour necrosis factor- α blockers in psoriatic arthritis: an analysis of a longitudinal observational cohort. *Rheumatology*, 49: 1361-1366.
146. Thalayasingam N, Isaacs JD. (2011) Anti-TNF therapy. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 25: 549-567.
147. Lin J, Ziring D, Desai S, Kim S, Wong M, Korin Y, Braun J, Reed E, Gjertson D, Singh RR. (2008) TNF α blockade in human diseases: An overview of efficacy and safety. *Clin Immunol*, 126: 13-30.
148. Rudwaleit M, Claudepierre P, Wordsworth P, Cortina RL, Sieper J, Kron M, Carcereri-De-Prati R, Kupper H, Kary S. (2009) Effectiveness, safety, and predictors of good clinical response in 1250 patients treated with adalimumab for active ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*, 36: 801-808.
149. Lloyd S, Bujkiewicz S, Wailoo AJ, Sutton AJ, Scott D. (2010) The effectiveness of anti-TNF- α therapies when used sequentially in rheumatoid arthritis patients: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology*, 49: 2313-2321.
150. Quaglino P, Ortoncelli M, Comessatti A, Ponti R, Novelli M, Bergallo M, Costa C, Cicchelli S, Savoia P, Bernengo MG. (2009) Circulating CD4⁺CD25^{bright}FOXP3⁺ T cells are up-regulated by biological therapies and correlate with the clinical response in psoriasis patients. *Dermatology*, 219: 250-258.
151. Richetta AG, Mattozzi C, Salvi M, Giancristoforo S, D'epiro S, Milana B, Carboni V, Zampetti M, Calvieri S, Morrone S. (2011) CD4⁺ CD25⁺ T-

- regulatory cells in psoriasis. Correlation between their numbers and biologics-induced clinical improvement. *Eur J Dermatol*, 21: 344-348.
152. Ma HL, Napierata L, Stedman N, Benoit S, Collins M, Nickerson-Nutter C, Young DA. (2010) Tumor necrosis factor α blockade exacerbates murine psoriasis-like disease by enhancing Th17 function and decreasing expansion of Treg cells. *Arthritis Rheum*, 62: 430-440.
153. Van Kuijk AWR, DeGroot J, Koeman RC, Sakkee N, Baeten DL, Gerlag DM, Tak PP. (2010) Soluble biomarkers of cartilage and bone metabolism in early proof of concept trials in psoriatic arthritis: Effects of adalimumab versus placebo. *PLoS ONE*, 5: pii: e12556. doi: 10.1371/journal.pone.0012556.
154. Iervolino S, Di Minno MN, Peluso R, Lofrano M, Russolillo A, Di Minno G, Scarpa R. (2012) Predictors of early minimal disease activity in patients with psoriatic arthritis treated with tumor necrosis factor- α blockers. *J Rheumatol*, 39: 568-573.
155. Campanati A, Goteri G, Simonetti O, Ganzetti G, Giuliadori K, Stramazotti D, Morichetti D, Bernardini ML, Mannello B, Fabris G, Offidani A. (2007) CTACK/CCL27 expression in psoriatic skin and its modification after administration of etanercept. *Br J Dermatol*, 157: 1155-1160.
156. Zaba LC, Suárez-Farinas M, Fuentes-Duculan J, Nograles KE, Guttman-Yassky E, Cardinale I, Lowes MA, Krueger JG. (2009) Effective treatment of psoriasis with etanercept is linked to suppression of IL-17 signaling, not immediate response TNF genes. *Clin Immunol*, 124: 1022-1030.
157. Di Renzo L, Bianchi A, Saraceno R, Calabrese V, Cornelius C, Iacopino L, Chimenti S, De Lorenzo A. (2012) -174G/C IL-6 gene promoter polymorphism predicts therapeutic response to TNF- α blockers. *Pharmacogenet Genomics*, 22: 134-142.
158. Tejasvi T, Stuart PE, Chandran V, Voorhees JJ, Gladman DD, Rahman P, Elder JT, Nair RP. (2012) TNFAIP3 gene polymorphisms are associated with response to TNF blockade in psoriasis. *J Invest Dermatol*, 132: 593-600.
159. Vasilopoulos Y, Manolika M, Zafiriou E, Sarafidou T, Bagiatis V, Krüger-Krasagaki S, Tosca A, Patsatsi A, Sotiriadis D, Mamuris Z, Roussaki-Schulze A. (2012) Pharmacogenetic analysis of TNF, TNFRSF1A, and TNFRSF1B gene

- polymorphisms and prediction of response to anti-TNF therapy in psoriasis patients in the Greek population. *Mol Diagn Ther*, 16: 29-34.
160. Wang H, Peters T, Sindrilaru A, Scharffetter-Kochanek K. (2009) Key role of macrophages in the pathogenesis of CD18 hypomorphic murine model of psoriasis. *J Invest Dermatol*, 129: 1100-1114.
161. Groves RW, Allen MH, Ross EL, Barker JN, MacDonald DM. (1995) Tumor necrosis factor alpha is pro-inflammatory in normal human skin and modulates cutaneous adhesion molecule expression. *Br J Dermatol*, 132: 345-352.
162. Terajima S, Higaki M, Igarashi Y, Nogita T, Kawashima M. (1998) An important role of tumor necrosis factor- α in the induction of adhesion molecules in psoriasis. *Arch Dermatol Res*, 290: 246-252.
163. Uyemura K, Yamamura M, Fivenson DF, Modlin RL, Nickoloff BJ. (1993) The cytokine network in lesional and lesion-free psoriatic skin is characterized by a T-helper type 1 cell-mediated response. *J Invest Dermatol*, 101: 701-705.
164. Victor FC, Gottlieb AB. (2002) TNF-alpha and apoptosis: implications for the pathogenesis and treatment of psoriasis. *J Drugs Dermatol*, 1: 264-275.
165. O'Quinn RP, Miller JL. (2002) The effectiveness of tumor necrosis factor α antibody (infliximab) in treating recalcitrant psoriasis. A report of 2 cases. *JAMA Dermatol*, 138: 644-648.
166. Gottlieb AB, Chamian F, Masud S, Cardinale I, Abello MV, Lowes MA, Chen F, Magliocco M, Krueger JG. (2005) TNF inhibition rapidly down-regulates multiple proinflammatory pathways in psoriasis plaques. *J Immunol*, 175: 2721-2729.
167. Ferran M, Romeu ER, Rincón C, Sacrista M, Giménez Arnau AM, Celada A, Pujol RM, Holló P, Jokai H, Santamaria-Babí LF. (2013) Circulating CLA⁺T lymphocytes as peripheral cell biomarkers in T-cell-mediated skin diseases. *Exp Dermatol*, 22: 439-442.
168. Harper EG, Simpson EL, Takiguchi RH, Boyd MD, Kurtz SE, Bakke AC, Blauvelt A. (2008) Efalizumab therapy for atopic dermatitis causes marked increases in circulating effector memory CD4⁺ T cells that express cutaneous lymphocyte antigen. *J Invest Dermatol*, 128: 1173-1181.

169. Vugmeyster Y, Kikuchi T, Lowes MA, Chamian F, Kagen M, Gilleaudeau P, Lee E, Howell K, Bodary S, Dummer W, Krueger JG. (2004) Efalizumab (anti-CD11a)-induced increase in peripheral blood leukocytes in psoriasis patients is preferentially mediated by altered trafficking of memory CD8⁺ T cells into lesional skin. *Clin Immunol*, 113: 38-46.
170. Cordiali-Fei P, Trento E, D'Agosto G, Bordignon V, Mussi A, Ardigo M, Mastroianni A, Vento A, Solivetti F, Beradrdesca E, Ensoli F. (2007) Effective therapy with anti-TNF-alpha in patients with psoriatic arthritis is associated with decreased levels of metalloproteinases and angiogenic cytokines in the sera and skin lesions. *Ann N Y Acad Sci*, 1110: 578-589.
171. Goedkoop AY, Kraan MC, Teunissen MBM, Picavet DI, de Rie MA, Bos JD, Tak PP. (2004) Early effects of tumour necrosis factor α blockade on skin and synovial tissue in patients with active psoriasis and psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*, 63: 769-773.
172. Goedkoop AY, Maarten CK, Picavet DI, de Rie MA, Teunissen MBM, Bos JD, Tak PP. (2004) Deactivation of endothelium and reduction in angiogenesis in psoriatic skin and synovium by low dose infliximab therapy in combination with stable methotrexate therapy: a prospective single-centre study. *Arthritis Res Ther*, 6: 326-334.
173. Tak PP, Taylor PC, Breedveld FC, Smeets TJM, Daha MR, Kluin PM, Meinders E, Maini RN. (1996) Decrease in cellularity and expression of adhesion molecules by anti-tumor necrosis factor α monoclonal antibody treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 39: 1077-1081.
174. Klimiuk PA, Sierakowski S, Domystawska I, Fiedorczyk M, Chwiecko J. (2004) Reduction of soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1, and sE-selectin) and vascular endothelial growth factor levels in serum of rheumatoid arthritis patients following multiple intravenous infusions of infliximab. *Arch Immunol Ther Exp*, 52: 36-42.
175. Langewouters AMG, van Erp PEJ, de Jong EMGJ, van de Kerkhof PCM. (2008) Lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with moderate-to-severe versus mild plaque psoriasis. *Arch Dermatol Res*, 300: 107-113.

- 176.Zhang L, Yang XQ, Cheng J, Hui RS, Gao TW. (2010) Increased Th17 cells are accompanied by FoxP3 Treg cell accumulation and correlated with psoriasis disease severity. *Clin Immunol*, 135: 108-117.
- 177.Arıcan O, Aral M, Sasmaz S, Ciragil P. (2005) Serum levels of TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity. *Mediators Inflamm*, 5: 273-279.
- 178.Nestle FO, Conrad C, Tun-Kyi A, Homey B, Gombert M, Boyman O, Burg G, Liu YJ, Gilliet M. (2005) Plasmacytoid dendritic cells initiate psoriasis through interferon- α production. *J Exp Med*, 202: 135-143.
- 179.Seneschal J, Milpied B, Vergier B, Lepreux S, Schaefferbeke T, Taïeb A. (2009) Cytokine imbalance with increased production of interferon- α in psoriasiform eruptions associated with antitumor necrosis factor- α treatments. *Br J Dermatol*, 161: 1081-1088.
- 180.Fiorentino DF. (2007) The yin and yang of TNF- α inhibition. *Arch Dermatol*, 143: 233-236.
- 181.Davison SC, Ballsdon A, Allen MH, Barker JNWN. (2001) Early migration of cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) positive T cells into evolving psoriatic plaques. *Exp Dermatol*, 10: 280-285.
- 182.Vissers WHPM, Arndtz CHM, Muys L, van Erp PEJ, de Jong EMG, van de Kerkhof PCM. (2004) Memory effector (CD45RO+) and cytotoxic (CD8+) T cells appear early in the margin zone of spreading psoriatic lesions in contrast to cells expressing natural killer receptors, which appear late. *Br J Dermatol*, 150: 852-859.
- 183.Egawa G, Kabashima K. (2011) Skin as a peripheral lymphoid organ: revisiting the concept of skin-associated lymphoid tissues. *J Invest Dermatol*, 131: 2178-2185.
- 184.Cai YH, Lu ZY, Shi RF, Xue F, Chen XY, Pan M, Yuan WR, Xu H, Li WP, Zheng J. (2009) Enhanced proliferation and activation of peripheral blood mononuclear cells in patients with psoriasis vulgaris mediated by streptococcal antigen with bacterial DNA. *J Invest Dermatol*, 129: 2653-2660.

185. Mallbris L, Wolk K, Sánchez F, Ståhle M. (2009) HLA-Cw*0602 associates with a twofold higher prevalence of positive streptococcal throat swab at the onset of psoriasis: a case control study. *BMC Dermatol*, 9: 5.
186. Sigmundsdóttir H, Gudjónsson JE, Valdimarsson H. (2003) Interleukin-12 alone can not enhance the expression of the cutaneous lymphocyte associated antigen (CLA) by superantigen-stimulated T lymphocytes. *Clin Exp Immunol*, 132: 430-435.
187. Davison SC, Allen MH, Mallon E, Barker JNWN. (2001) Contrasting patterns of streptococcal superantigen-induced T-cell proliferation in guttate vs. chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol*, 145: 245-251.
188. Thorleifsdóttir RH, Sigurdardóttir SL, Sigurgeirsson B, Olafsson JH, Sigurdsson MI, Petersen H, Arnadóttir S, Gudjónsson JE, Johnston A, Valdimarsson H. (2012) *J Immunol*, 188: 5160-5165.
189. Takashima K, Tateda T, Matsumoto T, Iizawa Y, Nakao M, Yamaguchi K. (1997) Role of tumor necrosis factor alpha in pathogenesis of pneumococcal pneumonia in mice. *Infect Immun*, 65: 257-260.
190. Gong JH, Sprenger H, Hinder F, Bender A, Schmidt A, Horch S, Nain M, Gemsa D. (1991) Enhanced tumor necrosis factor- α (TNF- α) gene expression and lipopolysaccharide-triggered TNF- α release. *J Immunol*, 147: 3507-3513.
191. Fischer H, Dohlsten M, Andersson U, Hedlund G, Ericsson P, Hansson J, Sjögren HO. (1990) Production of TNF- α and TNF- β by staphylococcal enterotoxin A activated human T cells. *J Immunol*, 144: 4663-4669.
192. Santamaria LF, Torres R, Giménez-Arnau AM, Giménez-Camarasa JM, Ryder H, Palacios JM, Beleta J. (1999) Rolipram inhibits staphylococcal enterotoxin B-mediated induction of the human skin-homing receptor on T lymphocytes. *J Invest Dermatol*, 113: 82-86.

11. Saját publikációk jegyzéke

11.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. Jókai H, Marschalkó M, Csomor J, Szakonyi J, Kontár O, Barna G, Kárpáti S, Holló P. (2012) Tissue-Specific homing of immune cells in malignant skin tumors. *Pathol Oncol Res*, 18: 749-759. **IF:1,366**
2. Jókai H, Szakonyi J, Kontár O, Barna G, Kárpáti S, Holló P. (2013) Cutaneous lymphocyte-associated antigen as a novel predictive marker of TNF-alpha inhibitor biological therapy in psoriasis. *Exp Dermatol*, 22: 221-223. **IF:3,543**
3. Ferran M, Romeu ER, Rincón C, Sacrista M, Giménez Arnau AM, Celada A, Pujol RM, Holló P, Jókai H, Santamaria-Babí LF. (2013) Circulating CLA+T lymphocytes as peripheral cell biomarkers in T-cell-mediated skin diseases. *Exp Dermatol*, 22: 439-442. **IF:3,543**

11.2. A disszertációtól független közlemények

1. Holló P, Jókai H. (2011) Előzetesen TNF-alpha gátló terápiában részesülő beteg ustekinumab kezelése. *Bőrgyógy Venereol Sz*, 87: 219-221.

12. Köszönetnyilvánítás

Őszinte hála illeti mindazokat, akik bármilyen módon hozzájárultak PhD munkám létrejöttéhez. Elsőként szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Holló Péter Docens Úrnak az évek során nyújtott minden segítségét, támogatását és bátorító optimizmusát, ami mindig nagy lendületet adott számomra. Köszönöm Kárpáti Sarolta Professzor Asszonynak, hogy intézetében helyet és lehetőséget biztosított a kutatási munka kivitelezéséhez. Köszönet illeti Marschalkó Márta Professzor Asszonyt szaktudásával nyújtott segítségéért, valamint Dr. Barna Gábort és Szabó Orsolyát az áramlási citometriai mérések kivitelezésében, a módszer elsajátításában nyújtott segítségükért. Külön köszönöm Dr. Rhenso Gonzáleznek a statisztikai számításoknál nyújtott segítségét. Köszönöm a közreműködést a psoriasis szakrendelés asszisztensnőinek, Fejes Mártának és Surányi Évának. Köszönöm a segítségét a klinikai labor asszisztensnőinek, Katonáné Horváth Gabriellának és Fazekasné Puskás Irénnek. Végül, de nem utolsó sorban óriási köszönet és hála a családom tagjainak, akik mindvégig mellettem álltak.