

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**SZISZTÉMÁS AUTOIMMUN BETEGSÉGEK
IMMUNPATHOLÓGIÁJÁNAK ÉS
KLINIKUMÁNAK EGYES KÉRDÉSEI**

Dr. Kovács László



Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ

Reumatológiai és Immunológiai Klinika

2020

1. Bevezetés

A Magyar Tudományos Akadémia doktora cím megszerzéséért benyújtott dolgozatomban három fő kutatási téma köré csoportosítom kutatómunkám bemutatását. Elsőként a Sjögren szindróma (SS) és az autonóm idegrendszer kapcsolatát célzó korábbi vizsgálatainkra alapozva a nyál- és könnymirigyekben domináns m3 altípusú muscarinszerű acetylcholin receptor (m3AChR) elleni autoantitestek kimutatását és azok klinikai ill. pathogenetikai szerepét felmérő kutatásokat mutatom be. Második részben a szisztémás lupus erythematosus (SLE) pathogenesisében fontos szerepet játszó T-sejt diszfunkció háttérében álló potenciális tényezők közül a galektin-1 (Gal-1), egy immunregulátor lektin fehérje, valamint ehhez kapcsolódva a sejtfelszíni glikozilációs mintázat rendellenességeit, valamint egy további lehetséges mediátor jelátvivő fehérje eltéréseit elemző vizsgálatainkat mutatom be. Szintén az SLE-t érinti az antifoszfolipid antitesteknek a betegség nem-thromboemboliás mechanizmusú szervi manifesztációival fennálló kapcsolatát vizsgáló klinikai felmérésünk. Harmadrészt elkezdjük annak a kérdésnek a vizsgálatát, hogy rheumatoid arthritisben (RA) és spondylitis ankylopoetica-ban (ankyloizáló spondylitis – AS) milyen megfontolások alapján lehet a biológiai terápiás kezelések leállítását megfontolni akkor, ha a beteg már hosszú ideje remisszióban van a gyógyszerek mellett.

2. Háttér, célkitűzések

2.1. Sicca tünetek pathogenesisise SS-ben – acetylcholin receptor elleni antitestek potenciális szerepe

Több kutatási eredmény is felvetette, hogy az SS-ben kialakuló sicca tünetek háttérében nemcsak a mirigyek irreverzibilis pusztulása, hanem – potenciálisan terápiásan befolyásolható tényezőként – az autonóm idegrendszer működészavara is állhat. Saját korábbi munkánkban cardiovascularis mellett a gastrointestinalis és urogenitalis rendszert érintő autonóm idegrendszeri működészavar jeleit írtuk le. Utóbbi két szervrendszerben a könny- és nyálmirigyekhez hasonlóan, szintén az m3AChR a domináns cholinerg receptor. Másik korábbi munkánkban pedig leírtuk, hogy az intracutan alkalmazott cholinerg agonista szignifikánsan kisebb vasodilatációt okoz SS-s betegekben, mint egészségesekben. A kísérleti elrendezés alapján eredményünket azzal tudtuk magyarázni, hogy nem neuropathia miatt, hanem receptoriális szinten gátlódik az acetylcholin hatása, és antireceptoriális antitestek jelenlétét vetettük fel. Két másik kutatócsoport patkány illetve egér nyálmirigyminták felhasználásával acetylcholin-receptorral reagáló antitesteket írt le, melyek gátolnák a cholinerg neurotransmissiót. Így célkitűzésünk az volt, hogy megvizsgáljuk, emberi m3AChR-rel reagáló antitestek kimutathatók-e SS-ben, és ha igen, milyen gyakorisággal, mi a klinikai diagnosztikai értékük, bizonyítható-e pathogenetikai szerepük az emberi nyálmirigyekben, és végül, hogy megfelelő immundiagnosztikai tesztet dolgozzunk ki

kimutatásukra. A száraz tünetek multifaktoriális eredetét ismerve primer SS-s, RA-s és SLE-s betegekben komplex módon fel kívántuk mérni az anti-m3AChR antitestek, pszicho-szociális tényezők valamint egyéb betegség-specifikus tényezők kóroki szerepét.

2.2. A klinikai képet alakító pathogenetikai eltérések vizsgálata SLE-ben

SLE-ben a T-lymphocyták antigénfelismerést követő aktivációs folyamatainak számtalan lépése tér el a normális jelátviteli mechanizmusoktól. A komplex T-sejt diszfunkciónak genetikai, epigenetikai és immunregulációs oka van. Megváltozik a T-sejtek antigéningerre történő aktivációs ingerküszöbe, interleukin-2 termelése, regulátor T-sejt (Treg) irányba történő differenciálódása, és a sejten belüli jelpályák egyensúlya, ami kihatással van a T-helper (Th) sejtek immunszabályozó működésére és apoptózis-hajlamára is. A galektin-1 (Gal-1) egy immunregulátor funkciókkal rendelkező lektin, mely az emlőssejtek felszínén elhelyezkedő, elágazó, többnyúlványú N-glikánokon és O-glikánokon elhelyezkedő terminális N-acetil-laktózin motívumokhoz kapcsolódik. A T-sejtek számos fontos sejt felszíni molekulája tartalmaz ilyen ligandokat, így a Gal-1 fontos szabályozó funkciót tölt be a T-sejtek működésében. Legfontosabb ilyen hatása az aktivált Th1 és Th17 sejtek apoptózisának indukciója, míg a Th2 és Treg sejtek működésére támogató hatással van. Több betegség állatmodelljében, így pl. experimentális autoimmun encephalitis, colitis vagy arthritis mellett SLE-s egérmódelben is azt találták, hogy a Gal-1 adása gátolta a betegség kifejlődését, csökkentette az aktivált T-sejtek számát, fokozta a FoxP3 expresszióját, és ezáltal növelte az állatok túlélését. Humán SLE-ben azonban nem vizsgálták még a Gal-1 szerepét.

Mivel a Gal-1 a T-sejtekre kifejtett hatásait a különböző sejt felszíni proteoglykánok megfelelő szénhidrát-csoportjaihoz kötődve fejt ki, fontos kérdés az is, hogy a T-sejtek felszíni glikozilációs mintázata eltér-e az egészségesekétől. A sejt felszíni „cukor-kód” daganatok esetén fontos információkat szolgáltat a tumorok biológiai viselkedéséről, így mára már elfogadott diagnosztikai és prognosztikai markernek tekinthető. Immun-mediált betegségekben kimutatták, hogy az immunglobulinok, a T-sejt receptor vagy a major histocompatibilitási komplex (MHC) molekulák glikoziláltsága pathogenetikai szereppel bír egyes kórképekben, azonban a T-sejtek felszíni glikozilációs mintázatának eltéréseit SLE-ben még nem vizsgálták.

Kutatócsoportunk több évtizedes munkája jelentősen hozzájárult a Gal-1 molekuláris hatásmechanizmusának felderítéséhez. Így célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a Gal-1 expresszióját SLE-ben szenvedő betegek aktivált T-lymphocytáiban aktív és inaktív betegség idején, valamint a betegek T-sejtjeinek apoptotikus választ exogén Gal-1-re. Mivel a Gal-1 a hatásait a sejt felszíni glykánokhoz kötődve közvetíti, további célunk volt megvizsgálni a lupusos T-sejtek sejt felszíni glikozilációs mintázatát, az ezt meghatározó enzimek expresszióját, különös figyelemmel a Gal-1 kötődésére a T-sejtek felszínéhez. Folytatva a kutatócsoport korábbi munkáját, tovább kívántuk vizsgálni a Gal-1 celluláris hatásmechanizmusát, így az előzőekhez kapcsolódva az apoptózis indukció és az endogén Gal-1 expresszió folyamatait, valamint az SLE-s T-sejt diszfunkcióban is fontos szerepet játszó Lck fehérje működésére gyakorolt hatásait. Végül részt vettünk a TMEM203, az SLE-

ben szintén igazoltan szerepet játszó Stimulator of Interferon Genes (STING) működésével kapcsolatos proinflammatorikus molekula szerepét feltáró vizsgálatokban is, konkrétan azzal a céllal, hogy összehasonlítsuk a TMEM203 expresszióját SLE-s és egészséges aktivált T-sejtekben.

Mivel az SLE egy nagyon heterogén klinikai képet és kórlefolyást mutató betegség, fontos, hogy olyan biomarkerekkel, pl. autoantitestekkel rendelkezünk, melyek meghatározása, akár már a betegség kezdetén, prediktív értékkel bír a későbbi kórlefolyás egyes paramétereire, segítve a klinikust az egyes szervi manifesztációk kifejlődésének korai detektálásában, vagy a terápia intenzitásának helyes megválasztásában. Az antifoszfolipid antitestek (APA-k) vénás és artériás thromboemboliás eseményekre és egyéb, vascularis eredetű szervi manifesztációkra hajlamosítanak. Tartós, magas titerű jelenlétük súlyosabb kórlefolyással, több irreverzibilis károsodással és rövidebb életkilátásokkal társul SLE-ben, nagyrészt az ischaemiás szervi károsodások kialakulása miatt. Nem vizsgálták azonban még azt, hogy a „tisztán” gyulladásos mechanizmusúnak tartott, nem-thromboemboliás mechanizmusú szervi érintettségek kifejlődésére van-e prediktív értéke az APA-k, vagy, thromboemboliás események ill. meghatározott szülészeti szövődmények esetén antifoszfolipid szindrómának (APS) nevezett tünetegyüttes fennállásának. Az általunk gondozott beteganyag felmérése révén erre a kérdésre kerestük a választ.

2.3. A biológiai terápia leépítésének lehetőségei krónikus arthritisekben

A biológiai terápiás (biológiai betegség-módosító antirheumatikus gyógyszer – bDMARD) gyógyszerek nagy áttörést hoztak az RA és AS kezelésében, és számos, a hagyományos DMARD kezelésre refrakter beteg számára is elhozták a remisszió lehetőségét és a strukturális károsodás leállítását. A biológiai terápiák alkalmazásának elterjedése további kérdéseket vetett fel, egyik ezek közül az, hogy szükséges-e ezen gyógyszerek határozatlan ideig történő, teljes dózisú adása, ha a beteg tartós remisszióba került mellettük, vagy van-e lehetőség arra, hogy leépítsük a biológiai terápiás kezelést. E kérdés megválaszolásához szükséges tudni azt, hogy milyen lesz a betegség lefolyása a biologikumok leállítása után, a betegek mekkora hányadában és mennyi idő után tér vissza a betegség-aktivitás, és vannak-e prediktorai a relapsusnak. Ezért célul tűztük ki, hogy egy hazai multicentrikus vizsgálat keretében részletes adatokat gyűjtsünk a biologikumok leállítását követő betegség-lefolyásról RA-s és AS-s betegek körében.

3. Módszerek

3.1. Sicca tünetek pathogenesise SS-ben – acetylcholin receptor elleni antitestek potenciális szerepe

Számítógépes predikcióval az m3AChR fehérje 213-228 aminosavas peptidszakasza bizonyult immundomináns epitópnak, melyet az első és utolsó két-két aminosav alapján KRSE-nek rövidítettünk. A peptidet kétféle módszerrel is előállítottuk: egyrészt szolid-fázisú peptidkémiai módszerrel önmagában, illetve glutathion-S-transzferázzal fúzióban rekombináns technikával (GST-KRSE). Utóbbi eljárási módot azért alkalmaztuk, mert korábbi tapasztalataink alapján a nagy molekulával fuzionált peptid jobban felveszi a természetes térbeli szerkezetét, ami elősegíti konformációs epitópok immundetektálását. A rekombináns fehérje készítéséhez a complementer DNS-t BamHI vektorral klónoztuk, majd *Escherichia coli*-ban expresszáltuk. A tisztított antigénnel szembeni antitesteket ELISA módszerrel vizsgáltuk primer SS-s betegek (n=40) és egészséges kontrollok (n=40) szérumban. Az antigén-antitest kötődés specificitását inhibíciós vizsgálattal ellenőriztük, melyhez KRSE-t, GST-KRSE-t, ill. kontrollként egy irreleváns peptidet és GST-t használtunk.

A fenti módszer beállítása után nagyobb esetszámon, több betegcsoport bevonásával mértük fel az anti-m3AChR antitestek klinikai jelentőségét. Ehhez 73 primer SS-s beteget hasonlítottunk össze 36 RA-s, 19 SLE-s, 14 sekunder SS-s, valamint 22 olyan beteggel, akiknél differenciál-diagnosztikai szempontból SS felmerült, de végül nem igazolódott. 40 egészséges kontroll személyt vontunk még be. Az előző bekezdésben említett kísérleteink tapasztalatai alapján GST-KRSE-t használtunk antigénként, az előzőekkel egyező ELISA eljárással.

Az anti-m3AChR antitestek pathogenetikai szerepének igazolására többféle elrendezésben vizsgáltuk kötődésüket humán nyálmirigyhez. Négy SS-s beteg szérumát, illetve affinitív kromatográfiával SS-s betegek szérumából tisztított, anti-KRSE monospecifikus antitestet használtunk. A szövettani vizsgálatokhoz a nyálmirigyeket egyrészt SS-s betegek ajakbiopsziás mintáiból, másrészt nem SS-s páciensek szájsebészeti műtete során (ajak-mucokela) eltávolított egészséges szövetrészekből nyertük. Direkt és indirekt fény- és elektronmikroszkópos immunohisztokémiával vizsgáltuk az ellenanyagok kötődését az egyes nyálmirigy-struktúrákhoz. Az indirekt eljárásoknál két egészséges személy nyálmirigyeit SS-s betegek szérumával reagáltattuk, vizsgálva azok kötődési lokalizációját, mintázatát, intenzitását, míg a direkt eljárásnál három SS-s beteg szövetmintáit közvetlenül a másodlagos antitesttel reagáltattuk annak eldöntésére, hogy már korábban, *in vivo* bekötődött antitestek kimutathatók-e, és milyen struktúrákhoz kapcsolódnak. Kontrollként a következő eljárásokat alkalmaztuk: 1. a primer antiszérum kihagyása, 2. egészséges kontroll szérum alkalmazása, 3. anti-m3AChR-monospecifikus antitest használata, 4. az anti-m3AChR monospecifikus antitest előinkubálása KRSE peptiddel, és 5. anti-vasoactiv intestinalis polypeptid (VIP) antitest alkalmazása elsődleges antitestként, mivel a VIP acetylcholinnal kolokalizációban fordul elő a cholinerg idegvégződéseknél.

A száraz tünetek kialakításában részt vevő tényezők felmérését 65 RA-s, 103 SLE-s és 76 primer SS-s beteg részvételével, valamint 50 egészséges kontroll személy vérmintáinak felhasználásával végeztük. Mindegyik betegnél két alkalommal felmértük a szubjektív száj- és szárazság jelenlétét, valamint egy alkalommal nem-stimulált nyáltermelést és 5 perces Schirmer tesztet végeztünk. Ez alapján igazoltuk az RA-hoz vagy SLE-hez társuló száraz

szindróma fennállását. Az anti-m3AChR antitestek meghatározásához ismételt antigén-predikció révén három immundomináns epitópot azonosítottunk: a második extracelluláris hurkon elhelyezkedő ligandkötő helyet is magában foglaló AGSE, a harmadik extracelluláris hurkon levő YNIP és egy intracelluláris szakaszon elhelyezkedő TRIC peptidet. Az AGSE peptid magában foglalja a korábbi kísérleteinknél használt KRSE szakaszt. Az antigenikus peptidek mindegyikét elkészítettük szilárd fázisú peptidszintézissel, valamint az AGSE és YNIP peptideket a korábbiakhoz hasonlóan rekombináns, GST-fúziós formában, illetve az AGSE-t bovin szérum albuminnal (BSA) sokszorosan konjugálva is. Az egyes antigéneket ELISA-val teszteltük. A tartós száj- vagy szemszáradás hátterében felmerülő vegetatív egyensúlyzavar okaként szóba jövő pszichés faktorok felmérésére az SF-36 és a FACIT kérdőíveket végeztük el mindegyik páciensnél.

3.2. A klinikai képet alakító pathogenetikai eltérések vizsgálata SLE-ben

3.2.1. SLE-s betegektől aktív betegség (SLEDAI-2K ≥ 6) idején vettünk vért (n=14) és a méréseket megismételtük 9 betegben, akiknek a betegsége kezelésünk eredményeként nyugalomba került. 16 egészséges személy vérmintáit használtuk kontrollként. Perifériás vér mononuclearis sejt (PBMC) frakciót szeparáltunk, majd 72 órán át phytohaemagglutinin-L-lel (PHA-L) aktiváltuk a sejteket. Az aktivált T-sejtek exogén Gal-1-re adott apoptotikus reakcióját ko-kulturás kísérlettel vizsgáltuk. A rendszerben a Gal-1-t prezentáló effektor sejtneként Gal-1-transzfektált HeLa tumorsejtet alkalmaztunk, melynek hatásait Gal-1-t nem expresszáló HeLa^{mock} sejtekével hasonlítottuk össze. Az aktivált T-sejteket 16 órán át tartottuk ko-kulturában a HeLa sejtekkel, majd a Gal-1 hatására bekövetkező apoptosist immunfluoreszcens mikroszkóp alatt Annexin-V jelöléssel határoztuk meg. Ezzel párhuzamosan megmértük az aktivált T-sejtek endogén, de novo expresszált Gal-1 mRNS mennyiségét is kvantitatív valós idejű reverz-transzkriptáz polimeráz láncreakcióval (RT-qPCR). A relatív génexpresszió meghatározásához endogén RPL27 expresszióját használtuk.

Modellkísérleteinkhez egyrészt humán T-sejt leukaemia sejtvonalat (Jurkat sejt) használtunk, a sejteket Gal-1-gyel transzfektáltuk (J^{Gal}), és összehasonlítottuk Gal-1-t nem expresszáló (J^{mock}) sejtekkel. Másrészt egér eredetű T-sejteket használtunk fel, melyeket C57BL/6 vad típusú és Gal-1 génkiütött törzseinek nyirokcsomóiból szeparáltunk. Az előzőekhez hasonló ko-kulturás kísérletekben vizsgáltuk a Jurkat sejtek apoptosist, míg az egér T-sejtek apoptosist vizsgálatánál Gal-1-et termelő és szekretáló vad típusú csontvelői eredetű mesenchymalis őssejteket (BMMSC) használtunk effektor sejtneként, kontrollként pedig Gal-1 génkiütött BMMSC-eket.

A Gal-1 celluláris lokalizációját illetve szekrécióját konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal vizsgáltuk Jurkat és egér sejteken, permeabilizálás után vagy anélkül, laboratóriumunkban kifejlesztett egér anti-humán Gal-1 monoklonális antitestet (2C1/6) segítségével. Végül a Gal-1 hatását az Lck enzim lokalizációjára immuncitokémiával vizsgáltuk, a ko-kultúrát követően a Jurkat ill. humán T-sejtekben az anti-Lck antitest kötődésének helyét immunfluoreszcens vagy konfokális mikroszkóppal vizualizáltuk.

3.2.2. A Gal-1 hatásainak értékelésénél figyelembe kell venni ligandjainak, a T-sejtek felszínén elhelyezkedő glikoproteinek szénhidrát oldalláncainak összetételét is. A T-sejtek sejtfelszíni glikozilációs mintázatának felmérését lektinkötési assay segítségével végeztük. Ezekhez a mérésekhez 18, aktív betegségben szenvedő SLE-s betegtől vettünk vérmintát, és az eredményeket 19 egészséges kontrolléval hasonlítottuk össze. A sejtfelszíni szénhidrátláncok meghatározó szénhidrát-komponenseire specifikus növényi lektinek és a Gal-1 kötődésének mértékét a T-sejtek nyugalmi és aktivált állapotában is megmértük. Áramlási citometriával vizsgáltuk a fluoreszcenciával jelölt növényi lektinek, valamint biotinilált anti-Gal-1 antitest (2C1/6) kötődésének mértékét a T-sejtek felszínéhez. Annak eldöntésére, hogy a Gal-1 sejtfelszíni kötődését befolyásolja-e a sejtek szialsav-tartalma (szializáltsága), a szialsavat lehasító neuraminidázzal kezeltük az aktivált T-sejteket, majd megismételtük a Gal-1 kötődési méréseket. Mivel a sejtfelszíni komplex szénhidrát oldalláncok szerkezete számos glikozilációs enzim koordinált működésének eredményeként alakul ki, RT-qPCR-rel megmértük 15 enzim (mannozidázok, mannozil-transzferázok, galaktozil-transzferázok, szialil-transzferázok, valamint a neuraminidáz-1) mRNS expresszióját.

3.2.3. A TMEM203 mRNS expresszióját RT-qPCR eljárással vizsgáltuk 20 SLE-s beteg aktivált T-lymphocytaiban. Mértük a reakcióút másik két fehérjéjének, a STING-nek és a mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS)-nak az mRNS szintjét is. Az eredményeket korreláltattuk az SLE-s betegek klinikai és betegség-aktivitási paramétereivel.

3.2.4. Egy retrospektív kohorszvizsgálat keretében 224 SLE-s betegünk klinikai adatbázisát dolgoztuk fel. Felmértük a Sydney kritériumok alapján igazolt APA-pozitivitás és APS előfordulását a beteganyagban, majd összehasonlítottuk összesen 31 szervi manifesztáció és immunszerológiai paraméter előfordulási gyakoriságát az APA-pozitív ill. –negatív, valamint az APS-sel társuló ill. nem társuló SLE-s betegek között. Összehasonlítottuk a csoportokat az egy betegben előforduló szervi manifesztációk száma, valamint az alkalmazott immunszuppresszív kezelések szempontjából is.

3.3. A biológiai terápia leépítésének lehetőségei krónikus arthritisekben

Három hazai arthritis centrum (Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézet Reumatológiai Tanszék, Békés Megyei Pándy Kálmán Kórház Reumatológiai Osztály és Klinikánk) bevonásával összegyűjtöttük azon eseteket, akiknél a biológiai terápia tartósan leállításra került. Összesen 126 RA-s, 48 AS-s, valamint 38 arthritis psoriatica-s (AP) beteget azonosítottunk, akiknél felmértük a leállítás okait, és rögzítettük a betegek demográfiai adatait, betegség-paramétereit, a megelőző biológiai és nem-biológiai kezelések fajtáit és hosszát, és a diagnózistól a biológiai kezelés elindításáig eltelt időtartamot. Ezután adatokat gyűjtöttünk a leállítást követő betegség-lefolyásról, a betegség-aktivitás alakulásáról, illetve amennyiben a betegség alacsony aktivitású volt ($DAS28 < 3,2$, ill. $BASDAI < 2,1$), ennek hosszáról, valamint az esetleges relapsus ($DAS28 > 5,1$, ill. $BASDAI > 4,0$ lesz) bekövetkeztéig eltelt időtartamról. Statisztikai összefüggést kerestünk az alacsony betegség-aktivitás

fennmaradása és a betegek és a betegségek különböző paraméterei között. Ezen utánkövetéshez 81 RA-s és 17 AS-s betegről állt rendelkezésre elegendő adat.

4. Eredmények

4.1. Sicca tünetek pathogenesis SS-ben – acetylcholin receptor elleni antitestek potenciális szerepe

A peptidszintézis révén előállított KRSE peptiddel szemben a 40-ből 30 SS-s beteg széruma mutatott a határérték feletti, pozitív reakciót, míg az egészséges kontrollok közül egy minta sem. A GST-KRSE fúziós fehérje formában prezentált antigén ennél is jobb eredményeket mutatott, 39 esetben tudtunk anti-m3AChR antitesteket kimutatni ezen antigén használatával. A vizsgálat szenzitivitása 97%-nak, specifitása 100%-nak adódott. Inhibíciós és immunoblot kísérleteink is megerősítették a KRSE-specifikus immunválasz fennállását. Tehát az SS-s betegek túlnyomó többségében anti-m3AChR antitesteket találtunk, és megállapítottuk, hogy a GST-fúziós forma alkalmasabb ezen antitestek detektálására, mint a rövid peptid antigének.

Következő lépésben a GST-KRSE antigént felhasználva az anti-m3AChR antitestek klinikai korrelációit és differenciál-diagnosztikai értékét mértük fel. Ebben a kohorszban is magas arányban (66/73 beteg, 90%) kaptunk pozitivitást primer SS-s betegek körében. SLE-ben 32, RA-ban 35, secunder SS-ben 29%-ban tapasztaltunk anti-m3AChR-pozitivitást, míg azon betegek körében, akikben SS-gyanú merült fel, de végül más diagnózis született, 50-ban volt jelen az antitest. Így az anti-m3AChR pozitivitás rendre 68, 65, 71 és 50%-os specifitással volt képes differenciálni a fenti kórképeket ill. állapotokat primer SS-től. Amikor azt kerestük, hogy a primer SS-en belül milyen paraméterrel korrelál az anti-m3AChR antitestek jelenléte, azt találtuk, hogy az adott betegben előforduló extraglandularis szervi manifesztációk számával és a leukopenia jelenlétével pozitív korrelációt mutatott az antitest-pozitivitás. Ugyanakkor a sicca tünetek súlyosságával, az autonóm neuropathia (más, korábbi vizsgálatban meghatározott) súlyosságával, az anti-SSA vagy anti-SSB antitest-pozitivitással ill. más klinikai vagy demográfiai tényezővel nem mutatott összefüggést az anti-m3AChR antitestek jelenléte.

Annak igazolására, hogy a vérben kimutatható anti-m3AChR antitestek valóban kötődnek a célszervhez, vagyis a nyálmirigyek acetylcholin-receptoraihoz, indirekt és direkt fény- és elektronmikroszkópos immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk. A fénymikroszkópos képeken az látszott, hogy specifikus immunreakciót mutat az SS-s betegek széruma, valamint az affinitás-kromatográfiával tisztított, anti-m3AChR-specifikus antitest a nyálmirigyek acinussejtjeinek basolateralis membránján levő, membrán-asszociált képletekkel. Az, hogy az anti-m3AChR-specifikus antitest pozitív reakciót ad, de az egészséges kontroll személyek széruma nem, komoly támogatást adott annak a hipotézisünknek, hogy az m3AChR a célpontja az immunreakciónak. Ennek pontosabb lokalizálására elektronmikroszkópos vizsgálatokat végeztünk. Ennek során pontosan tudtuk vizualizálni az idegvégződés-acinussejt

junkcióban a SS-s betegszérum és az anti-m3AChR tisztított antitest specifikus reakcióját. Az acetylcholinval igazoltan azonos végkészülékekben lokalizált VIP-pel látott kolokalizáció ezen szinapszisok cholinerg voltát is alátámasztotta. A kontroll szérumok nem mutattak hasonló kötődést. Az SS-s betegekben származó nyálmirigyekben hasonló lokalizációban tudunk a betegben előzetesen már bekötődött antitesteket kimutatni. Így eredményeink arra utalnak, hogy m3AChR-specifikus szérum a receptor várható lokalizációjában specifikusan kötődik a nyálmirigyekhez, ami az antitestek pathogenetikai szerepét támogatja.

Az anti-m3AChR antitestek és pszichés tényezők szerepét vizsgáló tanulmányunkban, hasonlóan a korábbi eredményeinkhez, azt kaptuk, hogy a GST-vel fuzionált szekvenciák (GST-AGSE és GST-YNIP) nagyobb szenzitivitással mutatják ki az antitesteket, mint a szintetikus peptid antigének. Az AGSE és az YNIP peptidek a primer SS-s betegek 41,2%-ában, míg a TRIC csak 17,6-ban reagált a primer SS-s betegek szérumával. A GST-AGSE ugyanakkor 75,6, a GST-YNIP pedig 86,5%-ban eredményezett pozitív reakciót. A BSA-konjugált forma szenzitivitása szintén alacsony (34,7%) volt. Az egészséges kontrollokban ugyanakkor a fenti antigének csak az esetek kevesebb mint 10%-ában mutattak pozitívítást, kivéve a GST-AGSE-t, ami a kontroll személyek 41,9%-ában reagált a szérummal. Így a legjobb specificitás-szenzitivitás arányt ebben a betegcsoportban a GST-YNIP adta. Az SLE-s betegek között az egyes antigénekkel az anti-m3AChR antitest pozitívítást az esetek 25 és 70%-a között, RA-s betegek körében 15 és 40% között adódott, és itt is a GST-fúziós formák reagáltak legnagyobb arányban. A primer SS-től történő differenciálás az előzőekben bemutatott vizsgálathoz hasonló hatékonyságúnak bizonyult. Az anti-m3AChR antitestek előfordulási gyakorisága nem különbözött a secunder SS-s és az azt nem mutató RA-s és SLE-s betegek között.

Ugyanakkor több pszichés-funkcionális paraméter, konkrétan az SF-36 életminőség kérdőív mentális kompozit score-ja, valamint a mentális egészségre, vitalitásra és társadalmi funkcionálásra vonatkozó pontszáma szignifikánsan rosszabb volt az SLE-hez társuló secunder SS-s betegek körében, így ezen tényezők kapcsolatban lehetnek a száraz tünetekkel szisztémás autoimmun betegségekben.

4.2. A klinikai képet alakító pathogenetikai eltérések vizsgálata SLE-ben

4.2.1. Aktív SLE-s betegek aktivált T-sejtjei szignifikánsan kisebb apoptózis választ mutattak az exogén Gal-1 hatására, mint az egészséges kontrollok. Ugyanezen betegcsoport endogén Gal-1 mRNS expressziója pedig szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kontrolloké. Inaktív betegség idején mindkét eltérés megszűnt, a Gal-1 termelés és az exogén Gal-1-re adott válasz is normalizálódott.

A jelenség okainak további vizsgálata során megállapítottuk, hogy T-sejt-aktiváció során a termelődött endogén Gal-1 nem szekretálódik a sejtől, hanem a konfokális lézer pásztázó mikroszkópos vizsgálatok tanúsága alapján a sejtmembrán belső oldalán koncentrálik. A Gal-1-t nem expresszáló Jurkat sejtek valamint a Gal-1 génkiütött egerek T-sejtjei szignifikánsan csökkent apoptotikus választ mutattak az extracelluláris Gal-1 hatására. Ezen

eredmények arra utalnak, hogy az endogén Gal-1 szükséges ahhoz, hogy az aktivált T-sejtek reagáljanak az exogén Gal-1 immunregulátor hatásaira, és SLE-ben a csökkent Gal-1 expresszió hajlamossá teheti a sejteket a Gal-1-gyel szembeni rezisztenciára.

A Gal-1 hatását az Lck enzim lokalizációjára immunfluoreszcens és konfokális lézer mikroszkópiával vizsgáltuk. Nyugalmi állapotban az Lck egyenletesen helyezkedett el a T-sejtek felszínén, és ez nem változott akkor sem, amikor Gal-1-t nem expresszáló HeLa sejteket használtunk a ko-kultúra során. Gal-1-t expresszáló HeLa sejtek hatására azonban az Lck enzim a sejtek az immunológiai szinapsztól távoli pólusán koncentráldott, vagyis szekvesztrálódott a szinapsziszól.

4.2.2. Az exogén Gal-1-gyel szembeni csökkent válaszkészség másik potenciális oka lehet annak csökkent kötődése a sejt felszínhez. Lektinkötési assay során azt tapasztaltuk, hogy az SLE-s T-sejtek nyugvó állapotban több lektint (Concanavalin-A-t, Lens culinaris agglutinin és Wheat germ agglutinin) kötnek, vagyis sejt felszíni szénhidrát-összetételük komplexebb, mint az egészségeseké. T-sejt aktiváció hatására a lektinkötési aktivitás egészségesekben jelentősen nőtt, SLE-ben azonban sokkal kisebb, egyes lektinek vonatkozásában elhanyagolható mértékű volt, így a Gal-1 esetén is. Így aktivált állapotban az SLE-s betegek T-sejtjeinek lektinkötése már nem különbözött az egészségesektől, kivéve a Gal-1-t, melynek kötése aktivált állapotban szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult, mint a kontrollokban. A komplex szénhidrát oldalláncok szintézisét végző enzimek expressziójának mérése során azt tapasztaltuk, hogy a béta-N-acetylglükózaminil-transzferázok közül az MGAT4A és MGAT4B, valamint a szialil-transzferázok közül az ST3GAL6 expressziója magasabb volt SLE-ben mint a kontrollokban. A Gal-1 kötés szempontjából fontos terminális szializáció kialakítását a szialil-transzferázok és a szialsavat lehasító neuraminidázok összehangolt működésének eredménye határozza meg. SLE-ben az ST3GAL6/NEU1 és az ST6GAL1/NEU1 mRNS arány szignifikánsan magasabb volt, ami fokozott szializációra hajlamosít. Amikor a sejteket neuraminidázzal kezeltük, a sejt felszíni Gal-1 kötés növekedett, ami arra utalt, hogy a Gal-1 csökkent hatásában a fokozott sejt felszíni szializáció is szerepet játszik.

4.2.3. A TMEM203 mRNS szignifikánsan magasabb expressziót mutatott SLE-s betegek aktivált T-sejtjeiben, mint kontrollokban, 13,83-szoros upregulációt kaptunk. A másik két mediátor közül a MAVS mRNS SLE-ben sokkal kisebb expressziót mutatott, míg a STING nem különbözött a kontrolloktól. A TMEM203 SLE-ben betöltött szerepe mellett szól az is, hogy expressziós szintje fordított arányosságot mutatott a C3 complement szérum szintjével.

4.2.4. A 224 vizsgált SLE-s beteg közül 105 bizonyult APA-pozitívnak a Sydney kritériumok szerint (47%), 52-nél pedig APS igazolódott (23%). Az APA-pozitív SLE-s betegek között a thrombotikus kritérium-tüneteken kívül a haemolyticus anaemia, a thrombocytopenia és az endocarditis is gyakoribb volt, mint az APA-negatívokban, valamint szignifikánsan magasabb volt az egy betegben valaha előfordult SLE-s szervi manifesztációk száma. Az SLE+APS betegek körében szignifikánsan gyakoribb volt a nephritis, a myocarditis, az interstitialis pneumonia, az organikus agyi szindróma és a thrombocytopenia előfordulása is. APS társulása esetén az előfordult szervi manifesztációk száma 8,1 volt az APS nélküli SLE-s betegekben 6,9 ($p < 0,05$), a major (életfontos) szervek érintettsége pedig betegenként 1,2 ill.

0,5 volt. Ebből az összehasonlításból kivettük a thrombotikus eseményeket. Szignifikánsan gyakrabban szorultak az SLE+APS betegek iv. corticosteroid, cyclophosphamid valamint azathioprin kezelésre is. Tehát APA és APS társulása nemcsak a klasszikus APS-tünetek, hanem számos nem-thromboemboliás, akár életet fenyegető szervi manifesztáció előfordulásának esélyét is megnöveli, és az SLE lefolyása várhatóan súlyosabb lesz.

4.3. A biológiai terápia leállításának lehetőségei krónikus arthritisekben

A biológiai terápia leállításának leggyakoribb oka az összes, 175 beteget értékelve mellékhatás vagy ellenjavallat fellépése volt: 32 esetben allergiás reakció, 25 betegnél gyakori vagy krónikus fertőzés, 21 esetben tumor ill. annak gyanúja. További gyakori ok volt a hatástalanság (n=28) ill. az elégtelen compliance (n=27). Tartós remisszió okán 18 esetben történt meg a biológiai terápiák leállítása.

A leállítás után azon RA-s betegek, akiknél alacsony betegségaktivitás mellett történt a biológiai terápia leállítása (n=33) 60,6 %-ban (n=20) remisszióban maradtak, ennek hossza átlagosan 16 hónap volt. Akinél relapsus lépett fel, ott ez átlagosan 15 hónappal a biológiai terápia felfüggesztése után következett be. A remisszió hossza fordított arányosságot mutatott a leállításkor tapasztalt betegség-aktivitással, és a biológiai terápia hosszával ($p<0,05$). Az a 6 RA-s beteg, akinél tartós remisszió miatt történt a biológikum leállítása, mind remisszióban maradt az utánkövetési időszak (3-55 hónap) végéig.

AS-ben a leállítást követően a betegség-aktivitás jellemzően emelkedett, és az utánkövetési időszak végére csak 11,7 %-ban (n=2) tapasztaltunk alacsony aktivitást, míg 35,2 %-ban (n=6) közepes, 52,9 %-ban (n=9) pedig magas volt az aktivitás. Még azon 8 beteg közül is 4-ben relapsus alakult ki, akiknél remisszióban történt a terápia leállítása, átlagosan 6 (3-9) hónappal a felfüggesztést követően.

5. Megbeszélés

5.1. Sicca tünetek pathogenesisise SS-ben – acetylcholin receptor elleni antitestek potenciális szerepe

Kutatócsoportunknak elsőként sikerült olyan reprodukálható immundiagnosztikai eljárást kifejlesztenie, amely alkalmas a humán m3AChR-rel reagáló autoantitestek kimutatására. Vizsgálataink hozzájárultak a molekula antigén-determináns epitópjainak azonosításához, és igazoltuk, hogy a GST-vel fúziós fehérje formában prezentált epitóp hatékonyabb detektálást tesz lehetővé, valószínűleg annak konformációs jellege miatt. Utóbb más munkacsoportok is igazolni tudták ezen antitestek létezését, de az anti-m3AChR-pozitivitások aránya meglehetősen nagy szórást mutat a szakirodalomban. Ennek oka a kiválasztott antigenikus epitópok, az antigén-prezentációs eljárások, valamint a bevont betegek klinikai és demográfiai

jellemzőinek különbségeiben keresendő. Saját eredményeink is további, pontosabb epitope-mappinget és nagyobb esetszámon végzett validálási eljárásokat követően válhatnak a rutin diagnosztika részévé. Eddigi eredményeink azt sugallják, hogy az egészségesektől nagy szenzitivitással és specificitással képes tesztünk elkülöníteni a primer SS-s betegeket, de egyéb szisztémás autoimmun betegségektől és a differenciál-diagnosztikában felmerülő kórállapotoktól történő differenciálási képesség még javítható lenne.

Az immundetektáláson túl fontos kérdés az anti-m3AChR antitestek pathogenetikai szerepe. Több tanulmány igazolta, hogy az SS-s betegek szérumból izolált immunglobulin acetylcholin-receptor-specifikus módon gátló hatást képes kifejteni a cholinerg neurotranszmisszióra. A funkcionális vizsgálóeljárások általában állati simaizom-szöveteken vagy humán daganatos nyálmirigy-sejtvonalon történtek. Immunhisztokémiai vizsgálataink mutatták ki, hogy biopsziás mintavétellel nyert emberi nyálmirigysejtekhez is kötődnek az SS-s betegek szérumból izolált antitestek, valamint hogy SS-s betegek nyálmirigyeiben az m3AChR-nek megfelelő lokalizációban *in vivo* bekötődött antitestek mutathatók ki. Így kísérleteink erősen támogatják azt a hipotézist, hogy a vérből kimutatható anti-m3AChR antitestek a célszervben levő antigénhez is kötődnek, ami funkcionális, pathogenetikai szerepük mellett szól.

5.2. A klinikai képet alakító pathogenetikai eltérések vizsgálata SLE-ben

SLE-ben az aktivált T-sejtek kevésbé érzékenyek az exogén Gal-1 apoptotikus hatására aktív betegség idején, mint az egészséges személyekben. Mivel a Gal-1 fontos szerepet tölt be az immunszabályozásban, a gyulladásos válasz lecsengésében, az immunológiai tolerancia kialakításában (Treg-indukció), az általunk leírt jelenség egy újabb potenciális oki tényező lehet a lupusos T-sejtek komplex működészavarában. Érdekes módon a Gal-1-gyel szembeni rezisztencia csak aktív betegség idején észlelhető, és miután a betegséget remisszióba hoztuk, az apoptózis-érzékenység helyreáll. Az említettekkel párhuzamosan az endogén Gal-1 termelése is csökken aktív SLE-s T-sejtekben.

Azt, hogy e párhuzam egyben kapcsolatot is jelent-e, további kísérletekkel igyekeztünk tisztázni. Igazoltuk, hogy az endogén, *de novo* szintetizált Gal-1 nem jut ki a T-sejtekből, így szabályozó hatásait nem szekretált formában, parakrin vagy autokrin módon fejti ki. Az általunk felvetett új hatásmechanizmus szerint az endogén Gal-1 funkciója, hogy elősegíti, lehetővé teszi az aktivált T-sejtek megfelelő válaszát a környezeti sejtek által prezentált exogén Gal-1-re. Mind humán, mind egér sejten végzett kísérleteink erre utalnak, de a kapcsolat megerősítése SLE-ben, illetve a pontos mechanizmus tisztázása még a jövő feladata.

A Gal-1-gyel szembeni rezisztencia másik oka lehet az az általunk leírt megfigyelés, hogy a Gal-1 kevésbé kötődik a T-sejtek felszínéhez a sejtek aktivált állapotában SLE-ben mind kontrollokban. Ebből a szempontból a Gal-1 eltér a többi vizsgált lektintől, és kötődési specificitásának ismeretében arra következtettünk, hogy a sejt felszín fokozott szializáltsága okozhatja a Gal-1 kötőhelyeinek fedettségét és ezáltal korlátozott hozzáférhetőségét. Az, hogy

a szénhidrát oldalláncok felépítésében részt vevő enzimeken belül túlsúlyban vannak a szializációt végző egyes szialil-transzferázok a szialsav eltávolítását végző neuraminidáz-1-gyel szemben, potenciális magyarázatot szolgáltat e jelenségre. Hipotézisünket támogatja, hogy amikor a terminális szialsavat lehasító neuraminidáz-1-gyel kezeltük a sejteket, a Gal-1-kötés fokozódott. Eredményeink alapján úgy gondoljuk, hogy a T-sejtek megváltozott sejtfelszíni glikozilációs mintázata szerepet játszhat a betegségben észlelhető komplex immunszabályozási zavarban, különösen a lektin természetű immunregulátor fehérjék hatásainak módosulása révén.

Elsőként írtuk le SLE-ben a TMEM203 megváltozott (emelkedett) mRNS expresszióját egészségesekhez képest. Mivel a molekula részt vesz az I. típusú interferonok indukciójában, és mivel eredményeink alapján a TMEM203 pozitív korrelációt mutat a betegség aktivitását jelző C3-hypocomplementaemiával, a TMEM203 egy új potenciális mediátorként merül fel az SLE pathogenesisében.

Végül klinikai jellegű felmérésünkben arra derítettünk fényt, hogy az APA-k jelenléte és az APS társulása esetén fokozott figyelmet kell fordítanunk az SLE nem-thromboemboliás mechanizmusú manifesztációira is. Mivel az APA-kat rutinszerűen meghatározzuk, akár több alkalommal is, az SLE-s betegek gondozása során, jelenlétük, ill. megjelenésük nemcsak a thrombosis prophylaxisra kell, hogy sarkalljon minket, hanem a nephritis, interstitialis tüdőbetegség, haematológiai manifesztációk vagy a myocarditis irányában is szorosabban kell obszerválnunk betegeinket, és várhatóan gyakrabban kell erőlyes immunszuppresszív kezelést indikálnunk.

5.3. A biológiai terápia leépítésének lehetőségei krónikus arthritisekben

Vizsgálatunk idején kevésbé volt még ismert a hosszú távú biológiai kezelés kimenetele, és nagyrészt tervezés alatt vagy előtt álltak a biológiai terápiák leépítését vizsgáló prospektív vizsgálatok, így saját kutatási programunk is. Eredményeink segíthettek abban, hogy ráirányítsuk a figyelmet a biológiai terápiák elhagyását szükségessé tevő tényezőkre. Másrészt alapot szolgáltathattak mind a napi gyakorlat klinikai döntéseihez, mind a biológiai terápiák leépítését célzó vizsgálatokhoz azokkal az eredményekkel, melyek szerint RA-ban a tartós remisszió esetén leállított biológiai terápia után van esély a biologikum-mentes tartós remisszióra. Ezzel szemben AS-ben a betegek jelentős részénél relapsus alakul ki az elhagyás után. Eredményeink egybevágóak az akkori és az azóta szerzett tapasztalatokkal, ami alapján napjainkra már széles körben elfogadottá vált, hogy tartós remisszió esetén RA-ban a biologikum adagja csökkenthető, és egyes esetekben akár teljes elhagyás is vállalható. A sikeres elhagyást előrejelző klinikai és különösen biokémiai markerek azonosítása azonban a mai napig hiányos, így a prediktorok azonosítása továbbra is aktuális feladat marad.

6. Új tudományos eredmények összefoglalása

1. Primer SS-s betegek szérumában a humán m3AChR-rel reagáló autoantitestek mutathatók ki a betegek jelentős hányadában
2. Az anti-m3AChR autoantitest-pozitivitás magas szenzitivitással és specificitással képes elkülöníteni a primer SS-t egészséges kontrolloktól, valamint alkalmas differenciálásra RA-s és SLE-s betegektől és olyan páciensektől, akik a primer SS differenciál-diagnosztikájában a napi gyakorlatban szóba jönnek
3. A primer SS-s betegek anti-m3AChR antitestjei kötődnek a humán nyálmirigyek epithelsejtjeihez az acetlycholin receptornak megfelelő lokalizációban
4. Primer SS-s betegek kisnyálmirigyeiben antitest-kötődés mutatható ki az m3AChR-nek megfelelően
5. Az anti-m3AChR antitestek SLE-s és RA-s betegek egy részének szérumában is kimutathatók. Az SLE-ben és RA-ban kialakuló száraz tünetcsoporthoz jelenlétével az anti-m3AChR-pozitivitás nem mutat asszociációt, de több, a pszicho-szociális jóllétet mérő mentális paraméter kapcsolatot mutat a száraz tünetcsoporthoz megjelenésével
6. A Gal-1 csökkent mRNS expressziót mutat SLE-s betegek aktivált T-lymphocytaiban aktív betegség idején, ami inaktív betegség idején normalizálódik
7. SLE-s betegek aktivált T-lymphocytaiban csökkent apoptotikus reakciót mutatnak az exogén Gal-1-gyel szemben, szintén betegségaktivitás-függő módon
8. Kapcsolat mutatható ki az aktivált T-lymphocytaiban endogén Gal-1 termelése és az exogén Gal-1-re adott apoptotikus reakciója között. A *de novo* expresszálandó intracelluláris Gal-1 hiánya rezisztenssé teszi a sejteket az extracelluláris Gal-1-gyel szemben
9. A Gal-1 nem szekretálódik a T-sejtekből aktiváció során, hanem a plazmamembrán belső oldalához közel lokalizálódik
10. SLE-s betegek T-lymphocytaiban nyugalmi állapotban magasabb kötési aktivitást mutatnak több lektinnel szemben, mint egészséges kontrollok. Az aktiváció során az egészségesekben nagyobb mértékű lektinkötési aktivitás-fokozódás alakul ki, mint SLE-ben, így a fenti különbség eltűnik, kivéve a Gal-1 esetében, melynek kötődése az aktivált T-sejtek felszínéhez alacsonyabb SLE-s betegekben, mint egészségesekben
11. SLE-ben az ST3GAL6/NEU1 és az ST6GAL1/NEU1 mRNS arány szignifikánsan magasabb, mint kontrollokban, ami arra utal, hogy a sejtfelszíni glikánok terminális szialinsav komponensének mennyiségét szabályozó enzimek között a szializáló enzimek túlsúlyban vannak

12. Neuraminidáz kezelés hatására az SLE-s aktivált T-sejtek Gal-1 kötő képessége fokozódik, ami támogatja azt a hipotézist, hogy a T-lymphocyták fokozott sejtfelszíni szializációja gátolja a Gal-1 kötődését e betegségben

13. Az exogén Gal-1 hatására az Lck enzim eltávolodik az immunológiai szinapszis területéről aktivált T-lymphocytákban

14. A TMEM203 enzim, mely részt vesz az I. típusú interferonok indukciójában, magasabb mRNS expressziót mutat SLE-s aktivált T-sejtekben, mint kontrollokban, és mennyisége pozitív korrelációt mutat a betegség aktivitását jelző C3-hypocomplementaemiával

15. Az antifoszfolipid szindróma társulása SLE-hez nemcsak a thrombotikus rizikót fokozza, hanem több nem-thromboemboliás mechanizmusú szervi manifesztáció előfordulásával is együtt jár. A társulás esetén az adott betegben a kórlefolyás során megjelenő összes és azon belül a major szervi manifesztációk száma is magasabb

16. Magyarországi RA-s és AS-s betegek körében a biológiai terápia leállítása után RA-ban a betegek viszonylag jelentős hányadában, AS-ben viszont csak ritkán marad remisszióban a betegség. Több klinikai paraméter összefüggést mutat a leállítás utáni relapsus-mentes kórlefolyással

7. Köszönetnyilvánítás

A lista nem lehet teljes. A dolgozatban ismertetett tudományos eredmények eléréséért és a tudományos kutatói pályám támogatásáért elsőként azon kutatók jutnak nagy hálával eszembe, akik, amikor jóformán vagy teljesen ismeretlenül egy kutatási ötlettel bekopogtattam hozzájuk, felkarolták, támogatták a terv megvalósulását, és laborjukba, munkacsoportjukba fogadtak. Ők Dr. Berczi István professzor a kanadai Winnipegben, Dr. Marczinovits Ilona az Élettani Intézetben, Dr. Fehér Erzsébet professzornő a budapesti Semmelweis Egyetem Anatómiai Intézetében és Dr. Monostori Éva professzornő az SZBK-ban.

Egész orvosi pályámat, különösen ami a klinikusi tevékenységet illeti, nagyban meghatározta Dr. Pokorny Gyula professzor hatása, akinek köszönöm, hogy belgyógyászati, klinikai immunológusi gondolkodást tudtam elsajátítani tőle, és aki mindig támogatta és lehetővé tette, hogy kutatómunkát végezzek.

Jelen munkámat munkatársaimnak ajánlom, a Reumatológiai és Immunológiai Klinika orvosainak és dolgozóinak, köszönettel és elismeréssel mindenki szorgalmas, értékes munkájáért, ami lehetőséget, háttérrel és inspirációt egyaránt nyújtott a betegségek jobb megismerését és gyógyítását célzó kutatásokhoz. Remélem, hogy minél többen közülük nálam jóval gazdagabb, eredményesebb tudományos pályát tudnak befutni. Nagy köszönettel tartozom Pördi Szilviának, akinek elkötelezett, megbízható munkájára immár több évtizede

támaszkodhatok a laboratóriumi munkákban. Két PhD doktoranduszom, Dr. Deák Magdolna és Dr. Hornung Ákos szorgalmas munkája nélkül az utóbbi sok év tudományos eredményei nem születhettek volna meg. Rajtuk kívül is köszönöm a Klinikánk minden munkatársának részvételét a betegek kiválasztásában, a minták gyűjtésében, a számtalan adatgyűjtéssel járó klinikai adatbázis építésében.

Boldog vagyok, hogy az SZBK-ban annak a kutatócsoportnak lehettem és lehetek a tagja, ahol Dr. Czibula Ágnessel, Dr. Szabó Enikővel, Dr. Fajka-Boja Robertával, Dr. Kriston-Pál Évával, Novák Juliannával és Gercső András Tibornéval dolgozhattam együtt. Vidám, mindig segítő, elkötelezett, szakszerű hozzáállásuk kutatói munkám egyik legnagyobb élménye.

Kutatói pályám során sok támogatást kaptam Dr. Kemény Lajos professzortól és Dr. Bata Zsuzsanna professzornőtől, többek között a PhD doktori képzésbe történő bekapcsolódásomban, kutatási terveim támogatásában, a szinte mindennapi közös munkákban, és abban, hogy a Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika laboratóriumában Dr. Kiss Mária irányítása alatt nagyon fontos kísérleteket végezhattunk. Tanárnőnek nagyon hálás vagyok az együtt végzett sok munkáért.

A tudományos kutatás világába, módszertanába elsőként Dr. Szabó Gyula professzor vezetett be tudományos diákköri témavezetőként. Nagyon sokat tanultam még laboratóriumi módszerek, a kutatói gondolkodás terén Dr. Szekeres-Barthó Júlia professzornőtől és munkatársaitól a pécsi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézetben, Dr. Carolyn Coulam és Dr. Roumen Rousseu intézetében Washingtonban, és Dr. Nagy Évától Winnipegben.

Sokat köszönhetek Dr. Lonovics János, Dr. Wittmann Tibor és Dr. Ábrahám György professzoroknak és Dr. Madácsy Lászlónak, azért, mert megteremtették a lehetőséget belgyógyászati és kutatói munkám végzéséhez.

Hálás szívvel emlékszem vissza első önálló kísérleteink megtervezésére és végrehajtására Dr. Szili-Török Tamással, Dr. Rakonczay Zoltán professzor segítségével a nyálmirigyminták preparálásában, Dr. Tóth Gábor professzor munkájára az antigének elkészítésében, Dr. Rudas László professzor, Dr. Paprika Dóra, Dr. Rosztóczy András, Dr. Papos Miklós, Dr. Dorgai László, Dr. Szvetnik Attila, Dr. Szekanecz Zoltán professzor és munkatársai, Dr. Keszthelyi Péter és munkatársai, Dr. Nagy György professzor (Semmelweis Egyetem Anatómiai Intézet), és Dr. Molnár János professzor támogatására a munkák során. Mindig jó szívvel emlékszem Koroknay Józsefné Jolika, az I. Belklinikai Immunlabor vezető asszisztense személyére és minden segítségére. Nagyon sokat tanultam és sok segítséget kaptam Dr. Marczinovits Ilona tanárnő két asszisztensnőjétől, Gál Ferencnétől és Szelepcsényi Zoltánnétól.

Életem és munkám minden aspektusára meghatározó hatással vannak szüleim, tudományos szempontból különösen édesapám példája. Köszönöm nekik, hogy életemet mindig egyengették, útmutatással szolgáltak. Boldogságomat, motivációimat családom, feleségem és gyermekeim körében találtam meg, és mindig nagy szeretettel gondolok rájuk.

8. A disszertációban ismertetett eredményeket megalapozó közlemények:

Teljes közlemény:

Szabó E, Hornung Á, Monostori É, Bocskai M, Czibula Á, Kovács L. Altered cell surface N-glycosylation of resting and activated T cells in Systemic Lupus Erythematosus. *Int. J. Mol. Sci.* 20: 4455, 2019.

Li Y, James SJ, Wyllie DH, Wynne C, Czibula A, Bukhari A, Pye K, Bte Mustafah SM, Fajka-Boja R, Szabó E, Angyal A, Hegedus Z, Kovács L, Hill AVS, Jefferies CA, Wilson HL, Yongliang Z, Kiss-Tóth E. TMEM203 is a binding partner and regulator of STING-mediated inflammatory signaling in macrophages. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 116: 16479-16488, 2019.

Hornung Á, Monostori É, Kovács L. Systemic lupus erythematosus in the light of the regulatory effects of galectin-1 on T-cell function. *Lupus* 26: 339-347, 2017.

Deák M, Hornung Á, Novák J, Demydenko D, Szabó E, Czibula A, Fajka-Boja R, Kriston-Pál É, Monostori É, Kovács L. Novel role for galectin-1 in T-cells under physiological and pathological conditions. *Immunobiology* 220: 483-489, 2015.

Deák M, Bocskai M, Burcsár S, Dányi O, Fekete Z, Kovács L. Non-thromboembolic risk in systemic lupus erythematosus associated with antiphospholipid syndrome. *Lupus* 23: 913-918. 2014.

Kádár G, Balázs E, Soós B, Laduver A, Keszthelyi P, Szekanecz Z, Kovács L. Disease activity after the discontinuation of biological therapy in inflammatory rheumatic diseases *Clin. Rheumatol.* 33: 329-333, 2014.

Mócsai A, Kovács L, Gergely P. What is the future of targeted therapy in rheumatology: biologics or small molecules? *BMC Medicine* 12: 43, 2014.

Novák J, Kriston-Pál E, Czibula A, Deák M, Kovács L, Monostori É, Fajka-Boja R. GM1 controlled lateral segregation of tyrosine kinase Lck predispose T-cells to cell-derived galectin-1-induced apoptosis. *Mol. Immunol.* 57: 302-309, 2014.

Szekanecz Z, Szamosi T, Soós B, Kovács L, Kádár G, Keszthelyi P, Laduver A, Rojkovich B, Gáti T, Winkler V. et al. A gyógyszeres terápia leépítésének bizonyítékai, kérdései és stratégiája reumatoid arthritisben. *Magyar Reumatológia* 54: 206-215, 2013.

Deák M, Szvetnik A, Balog A, Sohár N, Varga R, Pokorny G, Tóth G, Kiss M, Kovács L. Neuroimmune interactions in Sjögren's Syndrome: Relationship of exocrine gland

dysfunction with autoantibodies to muscarinic acetylcholine receptor-3 and mental health status parameters. *Neuroimmunomodulation* 20: 79-86, 2013.

Kovács L. Autoantibodies to autonomic neurotransmitter receptors - A unique pathway of neuro-immune interactions. *Adv. Neuroimmun. Biol.* 3: 209-215, 2012.

Kovács L, Fehér E, Bodnár I, Marczinovits I, Nagy GM, Somos J, Boda, V. Demonstration of autoantibody binding to muscarinic acetylcholine receptors in the salivary gland in primary Sjögren's syndrome. *Clin. Immunol.* 128: 269-276, 2008.

Kovács L. Antimuscarinic receptor antibodies in Sjögren's syndrome - A novel pathogenetic link between autoimmunity and glandular dysfunction? *Curr. Trends Immunol.* 8: 43-51, 2007.

Kovács L, Marczinovits I, György A, Tóth GK, Dorgai L, Pál J, Molnár J, Pokorny, G. Clinical associations of autoantibodies to human muscarinic acetylcholine receptor 3(213-228) in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (UK)* 44: 1021-1025, 2005.

Marczinovits I, Kovács L, György A, Tóth GK, Dorgai L, Molnár J, Pokorny G. A peptide of human muscarinic acetylcholine receptor 3 is antigenic in primary Sjogren's syndrome. *J. Autoimmunity* 4: 47-54, 2005.

Absztrakt:

Kádár G, Czibula Á, Szalay B, Nagy K, Pusztai A, Balog A, Monostori E, Vásárhelyi B, Szekanecz, Z, Kovács L. Predictors of disease course after the discontinuation of biologic therapy in Rheumatoid Arthritis patients with long-term remission. *Ann. Rheum. Dis.* 75. Suppl. 2: 1007, Paper: AB0312, 2016.

Hornung Á, Deák M, Novák J, Szabó E, Czibula A, Fajka-Boja R, Kriston-Pál É, Monostori É, Kovács L. Novel role for galectin-1 in T-cell apoptosis regulation and its relevance to systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 74. Suppl. 1: A19, 2015.

Kádár G, Pusztai A, Nagy K, Nagy Gy, Szekanecz Z, Géher P, Kovács L. A biológiai terápia tartós leállítását követő betegséglefolyás prediktorai rheumatoid arthritisben. *Magyar Reumatológia* 56: 145-146, 2015.

Deák M, Novák J, Czibula Á, Fajka-Boja R, Monostori É, Kovács L. Galectin-1 and immunoregulatory dysfunction in systemic lupus erythematosus. *Eur. J. Clin. Invest.* 43. Suppl. 1: 86, Paper 7.17, 2013.

Deák M, Bocskai M, Burcsár S, Dányi O, Fekete Z, Kovács L. Non-thromboembolic risk in SLE-associated antiphospholipid syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 72. Suppl. 3: A913, 2013.

Hornung Á, Deák M, Novák J, Szabó E, Czibula Á, Fajka-Boja R, Monostori É, Kovács L. A galektin-1 T-sejtekre gyakorolt apoptotikus hatásának vizsgálata szisztémás lupus erythematosusban. *Magyar Reumatológia* 54: 157, 2013.

Kádár G, Soós B, Laduver A, Keszthelyi P, Szekanecz Z, Kovács L. Disease course after the permanent cessation of biological therapy in inflammatory rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.* 72. Suppl. 3: A230, 2013.

Deák M, Szvetnik A, Kiss M, Tóth G, Kovács L. Anti-muscarinic-receptor3 autoantibodies in primary and secondary Sjögren's syndrome. *Eur. J. Clin. Invest.* 42. Suppl. 1: 61, Paper: 315, 2012.

Deák M, Árgyelán N, Hulló D, Balog A, Sohár N, Pokorny G, Szvetnik A, Kiss M, Tóth G, Kovács L. Detection of anti-muscarinic receptor-3 autoantibodies in secondary Sjögren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 70. Suppl. 3: 676, 2011.

Kovács L, Fehér E, Bodnár I, Marczinovits I, Nagy GM, Somos J, Boda V. Immuno-electron microscopic localization of muscarinic acetylcholine-receptors as an autoantigen in the salivary gland in primary Sjögren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 66. Suppl. 2: 589, 2007.

9. További teljes közlemények:

Besenyi Zs, Ágoston G, Hemelein, R, Bakos A, Nagy FT, Varga A, Kovács L, Pávics L. Detection of myocardial inflammation by 18F-FDG-PET/CT in patients with systemic sclerosis without cardiac symptoms: a pilot study. *Clin. Exp. Rheumatol.* 119:88-96, 2019.

Sejben A, Tiszlavicz L, Polyák K, Kovács L, Maráz A, Török D, Leprán Á, Ottlakán A, Furák J. Li–Fraumeni-szindróma. *Orvosi Hetilap* 160: 228-234, 2019.

Tóth DM, Ocskó T, Balog A, Markovics A, Mikecz, K, Kovács L, Meenakshi J, Bukiej AA, Ruthberg AD, Vida A. et al. Amelioration of Autoimmune Arthritis in Mice Treated With the DNA Methyltransferase Inhibitor 5'-Azacytidine. *Arthritis & Rheumatology* 71: 1265-1275, 2019.

Antal M, Battancs E, Bocskai M, Braunitzer G, Kovács L. An observation on the severity of periodontal disease in past cigarette smokers suffering from rheumatoid arthritis-evidence for a long-term effect of cigarette smoke exposure? *BMC Oral Health* 18: Paper 82, 2018.

Dulic S, Vasarhelyi Z, Bajnok A, Szalay B, Toldi G, Kovács L, Balog A. The Impact of Anti-TNF Therapy on CD4+ and CD8+Cell Subsets in Ankylosing Spondylitis. *Pathobiology* 85: 201-210, 2018.

Kovács P, Kovács L. Habitualis vetélés kivizsgálása, kezelése: ESHRE, ASRM ajánlások. *Magyar Nőorvosok Lapja* 81: 319-329, 2018.

Ocskó T, Balog A, Kovács L, Bánfai Zs, Hoffmann Gy, Glant T, Rauch T. A Novel MTHFR Isoform-based Biomarker for RA and SLE. *J. Mol. Biomarkers and Diagnosis* 9: Paper: 396, 2018.

Clowse ME, Wallace DJ, Furie RA, Petri MA, Pike MC, Leszczynski P, Neuwelt CM, Hobbs K, Keiserman M, Duca L, Kovács L. et al. Efficacy and Safety of Epratuzumab in Moderately to Severely Active Systemic Lupus Erythematosus: Results From Two Phase III Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trials. *Arthritis & Rheumatology* 69: 362-375, 2017.

Dulic S, Vasarhelyi Z, Sava F, Berta L, Szalay B, Toldi G, Kovács L, Balog A, T-Cell Subsets in Rheumatoid Arthritis Patients on Long-Term Anti-TNF or IL-6 Receptor Blocker Therapy. *Mediators Inflammation* 2017: Paper: 6894374, 2017.

Gál B, Dulic S, Kiss M, Groma G, Kovács L, Kemény L, Bata-Csörgő Z. Increased circulating anti- $\alpha 6$ -integrin autoantibodies in psoriasis and psoriatic arthritis but not in rheumatoid arthritis. *J. Dermatol.* 44: 370-374, 2017.

Illés B, Ágoston G, Morvay Z, Séllei Á, Janáky M, Kovács L, Varga A, Perikardiális folyadék és egy ritka betegség: csapatmunkában az erő. *Cardiol. Hung.* 47: 46-50, 2017.

Legány N, Berta L, Kovács L, Balog A, Toldi G. The role of B7 family costimulatory molecules and indoleamine 2,3-dioxygenase in primary Sjögren's syndrome and systemic sclerosis. *Immunol. Res.* 65: 622-629, 2017.

Piukovics K, Bertalan V, Terhes G, Bathori A, Hajdu E, Pokorny G, Kovács L, Urban E. Fatal cases of disseminated nocardiosis: challenges to physicians and clinical microbiologists: Case report. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 63: 405-410, 2016.

Rydén-Aulin M, Boumpas D, Bultink I, Callejas Rubio JL, Caminal-Montero L, Castro A, Colodro Ruiz A, Doria A, Dörner T, Gonzalez-Echavarri C, Gremese E, Houssiau FA, Huizinga T, Inanç M1, Isenberg D, Iuliano A, Jacobsen S, Jimenez-Alonso J, Kovács L, et al. Off-label use of rituximab for systemic lupus erythematosus in Europe. *Lupus Sci. Med.* 3: e000163, 2016.

Szel E, Szolnoky G, Korom I, Bata-Csorgo, Z, Adamkovich N, Annus JK, Kovács L, Krenacs L, Meszes A, Modok S et al. What can vasculitic leg ulcers implicate? *Int. Wound J.* 13: 1027-1028, 2016.

Vanya M, Füvesi J, Kovács ZA, Gorgoraptis N, Salek-Haddadi A, Kovács L, Bártfai Gy. NMDA-receptor associated encephalitis in a woman with mature cystic ovarian teratoma = N-metil-D-aszpartát-receptor (NMDA-R) -ellenes antitest közvetítette encephalitis érett ovarialis teratomával. *Ideggyógyászati Szemle/ Clin. Neurosci.* 69: 427-432, 2016.

Zhao, J, Giles BM, Taylor RL, Yette GA, Lough KM, Ng HL, Abraham LJ, Wu H, Kelly JA, Glenn SB, Kovács L et al. Preferential association of a functional variant in complement receptor 2 with antibodies to double-stranded DNA. *Ann. Rheum. Dis.* 75: 242-252, 2016.

Hodinka L, Bálint P, Bender T, Cziráj L, Géher P, Héjj G, Hittner Gy, Kiss E, Kovács L, Nagy Gy et al. Az arthritisek kezelése szintetikus és biológiai betegségmódosító gyógyszerekkel. *Magyar Reumatologia* 6: 4-24, 2015.

Legány N, Toldi G, Distler JH, Beyer C, Szalay B, Kovács L, Vásárhelyi B, Balog A. Increased plasma soluble urokinase plasminogen activator receptor levels in systemic sclerosis: possible association with microvascular abnormalities and extent of fibrosis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 53: 1799-1805, 2015.

Oparina NY, Delgado-Vega AM, Martinez-Bueno M, Magro-Checa C, Fernandez C, Castro RO, Pons-Estel BA, D'Alfonso S, Sebastiani GD, Witte T, Kovács L. et al. PXX locus in systemic lupus erythematosus: fine mapping and functional analysis reveals novel susceptibility gene ABHD6. *Ann. Rheumat. Dis.* 74: Paper: e14, 2015.

Resch MD, Marsovszky L, Nemeth J, Bocskai M, Kovács L, Balog, A. Dry eye and corneal langerhans cells in systemic lupus erythematosus. *J. Ophthalmol.* 2015: Paper: 543835, 2015.

Zhao J, Wu H, Langefeld CD, Kaufman KM, Kelly JA, Bae S-C, Alarcón-Riquelme ME, Alarcón GS, Anaya J-M, Criswell LA, BIOLUPUS Network: Kovács L. et al. Genetic associations of leptin-related polymorphisms with systemic lupus erythematosus. *Clin. Immunol.* 161: 157-162, 2015.

Ágoston G, Gargani L, Hulló D, Kovács L, Forster T, Varga, A. Bal pitvari diszfunkció vizsgálata speckle tracking technikával szisztémás szklerózisban. *Cardiol. Hung.* 44: 2-9, 2014.

Képiró L, Széll M, Kovács L, Keszthelyi P, Kemény L, Gyulai R. Genetic risk and protective factors of TNFSF15 gene variants detected using single nucleotide polymorphisms in Hungarians with psoriasis and psoriatic arthritis. *Human Immunol.* 75: 159-162, 2014.

Marsovszky L, Németh J, Resch MD, Toldi G, Legány N, Kovács L, Balog A. Corneal Langerhans cell and dry eye examinations in ankylosing spondylitis. *Innate Immunity* 20: 471-477, 2014.

Péntek M, Rojkovich B, Cziráj L, Géher P, Keszthelyi P, Kovács A, Kovács L, Szabó Z, Szekanecz Z, Tamási L. et al. Acceptability of less than perfect health states in rheumatoid arthritis: the patients' perspective. *Eur. J. Health Economics* 15 Suppl 1: 73-82, 2014.

Poór Gy, Géher P, Drescher E, Juhász P, Keszthelyi P, Kovács L, Nagy O, Rojkovich B, Ruzicska É, Schnaider T. et al. Evaluation of clinical outcome, treatment compliance and tolerability of adalimumab in patients with active rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis in Hungary: results from EviraEast, a multi-country, multi-center post marketing observational study. *Magyar Reumatológia* 55: 12-24, 2014.

Szalay B, Vásárhelyi B, Cseh A, Tulassay T, Deák M, Kovács L, Balog A. The impact of conventional DMARD and biological therapies on CD4+ cell subsets in rheumatoid arthritis: a follow-up study. *Clin. Rheumatol.* 33: 175-185, 2014.

Szalay B, Cseh Á, Mészáros G, Kovács L, Balog A, Vásárhelyi B. The impact of DMARD and anti-TNF therapy on functional characterization of short-term T-cell activation in patients with rheumatoid arthritis - A follow-up study. *Plos One* 9: Paper e104298, 2014.

Bajnok A, Kaposi A, Kovács L, Vasarhelyi B, Balog A, Toldi, G. Analysis by flow cytometry of calcium influx kinetics in peripheral lymphocytes of patients with rheumatoid arthritis. *Cytometry Part A*83A: 287-293, 2013.

Csoma Z, Kovács L, Varga E, Bata-Csörgő Z, Kemény L. Antisynthetase Syndrome: A Different Diagnosis to Dermatomyositis. *Acta Dermato-Venereol.* 93: 477-478, 2013.

Dalmády S, Kiss M, Képiró L, Kovács L, Sonkodi G, Kemény L, Gyulai R. Higher levels of autoantibodies targeting mutated citrullinated vimentin in patients with psoriatic arthritis than in patients with psoriasis vulgaris. *Clin. Develop. Immunol.* 2013: Paper 474028, 2013.

Farkas K, Nagy F, Kovács L, Wittmann T, Molnár T. Anti-tumor necrosis factor- α induced systemic lupus erythematosus in a patient with metastatic Crohn's disease—what is the role of anti-TNF antibody? *J. Crohns Colitis* 7: e143-e145, 2013.

Marsovszky L, Resch MD, Nemeth J, Toldi G, Medgyesi E, Kovács L, Balog A. In vivo confocal microscopic evaluation of corneal Langerhans cell density, and distribution and evaluation of dry eye in rheumatoid arthritis. *Innate Immunity*19: 348-354, 2013.

Namjou B, Kim-Howard X, Sun C, Adler A, Chung SA, Kaufman KM, Kelly JA, Glenn SB, Guthridge JM, Scofield RH, Kovács L. et al. PTPN22 association in systemic lupus erythematosus (SLE) with respect to individual ancestry and clinical sub-phenotypes. *Plos One*8 : e69404, 2013.

Toldi G, Szalay B, Beko G, Kovács L, Vásárhelyi B, Balog, A. Plasma soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine* 80: 96-98, 2013.

Toldi G, Beko G, Kadar G, Macsai E, Kovács L, Vasarhelyi B, Balog, A. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in the assessment of inflammatory activity of rheumatoid arthritis patients in remission. *Clin. Chem. Lab. Med.* 51: 327-332, 2013.

Toldi G, Bajnok A, Dobi D, Kaposi A, Kovács L, Vásárhelyi B, Balog A. The effects of Kv1.3 and IKCa1 potassium channel inhibition on calcium influx of human peripheral T lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Immunobiol.*218: 311-316, 2013.

Bocskai M, Kádár G, Kovács L. Az Amerikai Reumatológiai Kollégium 2012-es ajánlásai a lupus nephritis kezelésére. *Immunológiai Szemle* 4: 45-47, 2012.

Delgado-Vega AM, Dozmorov MG, Quiros MB, Wu YY, Martinez-Garcia B, Kozyrev SV, Frostegard J, Truedsson L, de Ramon E, Gonzalez-Escribano MF, Kovács L. et al. Fine mapping and conditional analysis identify a new mutation in the autoimmunity susceptibility gene BLK that leads to reduced half-life of the BLK protein. *Ann. Rheum. Dis.* 71: 1219-1226, 2012.

Hughes T, Adler A, Merrill JT, Kelly JA, Kaufman KM, Williams A, Langefeld CD, Gilkeson GS, Sanchez E, Martin J, Kovács L. et al. Analysis of autosomal genes reveals gene-sex interactions and higher total genetic risk in men with systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 71: 694-699, 2012.

Löfgren SE, Frostegård J, Truedsson L, Pons-Estel BA, D'Alfonso S, Witte T, Lauwerys BR, Endreffy E, Kovács L, Vasconcelos C. et al. Genetic association of miRNA-146a with systemic lupus erythematosus in Europeans through decreased expression of the gene. *Genes Immunity* 13: 268-274, 2012.

Szalay B, Meszaros G, Cseh A, Acs L, Deak M, Kovács L, Vasarhelyi B, Balog A. Adaptive Immunity in Ankylosing Spondylitis: Phenotype and Functional Alterations of T-Cells before and during Infliximab Therapy. *Clin. Develop. Immunol.* 2012: Paper 808724, 2012.

Terzin V, Földesi I, Kovács L, Pokornyi Gy, Wittmann T, Czakó L. Association between autoimmune pancreatitis and systemic autoimmune diseases. *World J. Gastroenterol.* 18: 2649-2653, 2012.

Toldi G, Szalay B, Beko G, Bocskai M, Deák M, Kovács L, Vásárhelyi B, Balog A. Plasma soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels in systemic lupus erythematosus. *Biomarkers* 17: 758-763, 2012.

Kovács L. A szisztémás vasculitisek célzott terápiája. *Immunológiai Szemle* 3 Különszám: 66-71, 2011.

Péntek M, Rojkovich B, Czirják L, Géher P, Keszthelyi P, Kovács A, Kovács L, Náfrádi L, Szanyó F, Szekanecz Z. et al. Biologikumok Alkalmazása Rheumatoid Arthritisben – Terápiafelmérés (BARAT vizsgálat) : biológiai terápiát kezdő betegek klinikai jellemzői és egészségügyi szolgáltatások igénybevételének jellemzői. *Immunológiai Szemle* 3:36-48. 2011.

Szalay B, Acs L, Vasarhelyi B, Kovács L, Balog A. Successful use of tocilizumab in a patient with rheumatoid arthritis following severe pancytopenia during etanercept therapy. *JCR: J. Clin. Rheumatol.* 17: 377-379, 2011.

Farkas, K, Nagy F, Kovács L, Csajbok E, Kovács G, Wittmann T, Molnar T. Ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis as part of autoimmune polyglandular syndrome type III. *Inflammatory Bowel Dis.* 16: 10-11, 2010.

Kiss E, Kovács L, Szodoray P. Malignancies in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Rev.* 9: 195-199, 2010.

Kovács L, Szodoray P, Kiss E. Secondary tumours in Sjogren's syndrome. *Autoimmunity Rev.* 9: 203-206, 2010.

Lofgren SE, Delgado-Vega AM, Gallant CJ, Sanchez E, Frostegard J, Truedsson L, Garrido ED, Sabio JM, Gonzalez-Escribano MF, Pons-Estel BA, Kovács L. et al. A 3'-Untranslated Region Variant Is Associated With Impaired Expression of CD226 in T and Natural Killer T Cells and Is Associated With Susceptibility to Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 62: 3404-3414, 2010.

Balog A, Hulló D, Farkas K, Csajbók É, Nagy F, Molnár T, Wittmann T, Kovács L. Autoimmun polyglandularis-szindróma részeként kialakult rheumatoid arthritis sikeres TNF- α -gátló kezelése : [esetismertetés] *Magyar Reumatológia* 50: 221-222, 2009.

Kovács L. Vesebetegség talaján kialakult, magas vérnyomással szövődött terhesség. *Magyar Nőorvosok Lapja* 72: 11-18, 2009.

Kovács A, Endreffy E, Petri I, Kovács L, Pokorny, G. HLA class II allele polymorphism in Hungarian patients with primary Sjogren's syndrome. *Scand. J. Rheumatol.* 35: 75-76, 2006.

PhD fokozat megszerzése előtt publikált teljes közlemények:

Kovács, L; Paprika D, Takacs R, Kardos A, Várkonyi T, Lengyel Cs, Kovács A, Rudas L, Pokorny G. Cardiovascular autonomic dysfunction in primary Sjogren's syndrome. *Rheumatology (UK)* 43: 95-99, 2004.

Kovács L, Pokorny G. Sjörgen-szindróma. *Háziorvos Továbbképző Szemle* 9: 17-21, 2004.

Endreffy E, Kovács A, Kovács L, Pokorny G. HLA class II allele polymorphism in Hungarian patients with systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheumat. Dis.* 62: 1017-1018, 2003.

Kovács L, Papos M, Takacs R, Roka R, Csenke Z, Kovács A, Varkonyi T, Pajor L, Pavics L, Pokorny G. Autonomic nervous system dysfunction involving the gastrointestinal and the urinary tracts in primary Sjogren's syndrome. *Clin. Exp. Rheumatol.* 21: 697-703, 2003.

Pokorny G; Iványi B, Sonkodi, S, Kovács L, Kovács A, Csáti S, Lázár M, Makula É. A veseérintettség kimenetele primer Sjögren szindrómában. *Magyar Immunológia* 2: 33-39, 2003.

Gyulai R, Kiss M, Mehravaran M, Kovács K, Pokorny G, Husz S, Dobozy A. Atypical autoimmune blistering dermatosis associated with Sjogren's syndrome. *Acta Derato-Venerol.* 82: 462-464, 2002.

Molnar K, Kovács L, Kiss M, Husz S, Dobozy A, Pokorny G. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Dermatol.* 27: 59-61, 2002.

Rosztoczy A, Kovács L, Wittmann T, Lonovics J, Pokorny G. Manometric assessment of impaired esophageal motor function in primary Sjogren's syndrome. *Clin. Exp. Rheumatol.* 19: 147-152, 2001.

Schwaak AJG, van de Brink H, Smeenk RJT, Manger K, Kalden JR, Tosi S, Domljan Z, Rozman B, Logar D, Pokorny G, Kovács L. et al. Systemic lupus erythematosus. Disease outcome in patients with a disease duration of at least 10 years: second evaluation. *Lupus* 10: 51-58, 2001.

Swaak AJ, van de Brink H, Smeenk RJ, Manger K, Kalden JR, Tosi S, Marchesoni A, Domljan Z, Rozman B, Logar D, Kovács L. et al. Incomplete lupus erythematosus: results of

a multicentre study under the supervision of the EULAR Standing Committee on International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Rheumatology (UK)* 40:89-94, 2001.

Gyulai R, Kiss M, Mehrawaran M, Kovács L, Pokorny G, Husz S, Dobozy A. Sjögren szindrómához társuló atipusos bullosus dermatosis. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle* 76: 155-160, 2000.

Kovács A, Szekeres E, Berek L, Endreffy E, Kovács L, Makula E, Eller J, Pokorny G, Petri I B. Relationship between the occurrence of anti-SSA, anti-SSB autoantibodies and HLA class II alleles from the aspect of in vitro inhibitory effect of glucocorticosteroid on the antibody-dependent cellular cytotoxicity in patients with primary Sjögren's syndrome. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 47: 421-431, 2000.

Kovács L, Szili-Török T, Bari F, Kéri Zs, Kovács A, Makula É, Pokorny G. Csökkent reakciókészség cholinerg ingerekre primaer Sjögren szindrómában. *Magyar Reumatológia* 41: 12-17, 2000.

Kovács L, Simon J, Kovács A, Pocsik A, Boros I, Ivanyi B, Pokorny, G. Diffúz alveolaris haemorrhagia szisztémás lupus erythematosusban [Diffuse alveolar hemorrhage in systemic lupus erythematosus] *Orvosi Hetilap* 141: 179-183, 2000.

Kovács L, Török T, Bari F, Kéri Z, Kovács A, Makula E, Pokorny G. Impaired microvascular response to cholinergic stimuli in primary Sjogren's syndrome. *Ann. Rheumat. Dis.* 59: 48-53, 2000.

Makula E, Pokorny G, Kiss M, Vörös E, Kovács L, Kovács A, Csernay L, Palko A. The place of magnetic resonance and ultrasonographic examinations of the parotid gland in the diagnosis and follow-up of primary Sjogren's syndrome. *Rheumatology (UK)*39: 97-104, 2000.

Kovács A, Endreffy E, Petri I, Varga É, Kovács L, Pokorny G. Primer Sjögren szindrómás betegek HLA II. osztályú allél polimorfizmusa. *Transzfúzió* 32: 33-38, 1999.

Kovács L, Szabó J, Molnár K, Kovács A, Pokorny G. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and other immunologic abnormalities in patients with habitual abortion. *Am. J. Reprod. Immunol.* 41: 264-270, 1999.

Swaak AJ, van Den Brink HG, Smeenk RJ, Manger K, Kalden JR, Tos S, Marchesoni A, Domljan Z, Rozman B, Logar D, Kovács L. et al. Systemic lupus erythematosus: clinical features in patients with a disease duration of over 10 years, first evaluation. *Rheumatology (UK)*38: 953-958, 1999.

Gyöngyösi M, Pokorny G, Jambrik Z, Kovács L, Kovács A, Makula E, Csanady M. Cardiac manifestations in primary Sjogren's syndrome. *Ann. Rheumat. Dis.* 55: 450-454, 1996.

Makula E, Pokorny G, Rajtar M, Kiss I, Kovács A, Kovács L. Parotid gland ultrasonography as a diagnostic tool in primary Sjogren's syndrome. *Br. J. Rheumatol.* 35: 972-977, 1996.

Makula É, Pokorny G, Kiss I, Kovács A, Kovács L, Csernay L. Parotis ultrahang vizsgálat, mint a sialographia alternatív lehetősége primaer Sjögren syndromában. *Magyar Radiológia* 70: 71-75, 1996.

Kovács László tudományos és oktatási közleményeinek összefoglalása
MTA V. Orvostudományi Osztály (2020.03.13)

Tudományos és oktatási közlemények	Szám		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Folyóiratcikkek²	81	—	—	—
szakcikkek nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	—	46	977	1085
szakcikkek, hazai idegen nyelvű	—	3	1	1
szakcikkek, magyar nyelvű	—	12	4	4
szakcikkek, sokszerzős, érdemi szerzőként ³	—	4	137	161
összefoglaló közlemény	—	7	75	78
rövid közlemény	—	9	55	56
II. Könyv	0	—	—	—
a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként	0	—	—	—
idegen nyelvű	—	0	0	0
magyar nyelvű	—	0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	—	0	0	0
b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként	0	—	—	—
idegen nyelvű	—	0	—	—
magyar nyelvű	—	0	—	—
bb) Felsőoktatási tankönyv	—	0	—	—
III. Könyvrészlet	1	—	—	—
idegen nyelvű	—	0	0	0
magyar nyelvű	—	1	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	—	0	0	0
IV. Konferenciaközlemény⁴	0	—	0	0
Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)	—	0	0	0
Tudományos közlemények összesen (I-IV.)	—	82	1249	1385
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	82	—	1249	1385

V. További tudományos művek	8	—	—	—
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is	—	5	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	—	3	11	11
Ötalmak, szabadalmak	—	0	0	0

VI. Hivatkozott absztraktok⁵	0	—	0	0
Összes hivatkozás ¹	—	—	1260	1396
Hirsch index ⁶	22	—	—	—
g index ⁶	35	—	—	—

Speciális tudásmetriai adatok	Szám	Összes hivatkozás
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	14	226
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	10	98
A tudományos fokozat (PhD) elnyerése utáni (2004) teljes tudományos folyóiratcikkek száma	59	761
Az utolsó 10 év (2010 - 2020) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	53	645
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	91	6,52%
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben	—	10
Jelentés, guideline	2	0
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő ⁷	6	153