

Vezető kutató: Prof. Dr. Udvardy Miklós

Témavezető: Dr. Papp Mária

BESZÁMOLÓ 2007

TUDOMÁNYOS MUNKA EREDMÉNYEI

2006-ben a Mecenatúra pályázat támogatásával régiókat felölelő multicentrikus tanulmány keretében gyulladós bélbetegségekben (IBD) és coeliákiában vizsgáltuk a haptoglobin (Hp) polimorfizmus megoszlást és a különböző fenotípusoknak a betegség klinikai megjelenésével és lefolyásával való kapcsolatát. IBD-ben meghatároztuk a különféle antimikrobiális antitestek –*anti-Saccharomyces cerevisiae* (ASCA IgG és IgA, gASCA IgG), *Eserichia coli outer membrane porin C* (OMP IgA)– előfordulási gyakoriságát és vizsgáltuk azoknak a betegség fenotípusával való összefüggését, valamint az innate immunitásban szerepet játszó NOD2/CARD15 és a TLR4 gén D299G (Asp299Gly) polimorfizmussal való kapcsolatát. Továbbá vizsgáltuk az IBD asszociált atípusos antineutrophil cytoplasmaticus antitest (pANCA) indirekt immunfluoreszcens vizsgálattal történő kimutatásában az etanol fixált neutrophil szubsztátok mellett alkalmazott formalin fixált preparátumok jelentőségét.

HP POLIMORFIZMUS VIZSGÁLATA:

511 gyulladós bélbeteg (Crohn-beteg [CD]: 468 colitis ulcerosa [UC]), 550 coeliakiás beteget (gyermek: 295 és felnőtt: 255) és 384 egészséges kontroll egyén esetén történt Hp fenotipizálás szérumból sodium-dodecil-szulfát poliakrilamid gradiens gél elektroforézissel majd immunoblottal.

Crohn-betegekben a haptoglobin-1 (Hp¹) allél szignifikánsan gyakrabban fordul elő (0,395) a kontroll egyénekhez képest (0,345; OR: 1,24, 95%CI: 1,02-1,52, p=0.03), míg colitis ulcerosásokban nem különbözött (0,314, p=NS). Crohn-betegekben kapcsolatot tudtak kimutatni a haptoglobin fenotípus és a betegség viselkedése között (Hp *I-1* és *2-2*: esetén a B1 és B2: 36,6%-34,3% és 32,4%-32,5% vö. *2-1*: 44,9% és 20.3%; OR_{B1Hp2-1 vs. egyéb}: 2,06, 95%CI: 1,29-3,28). Továbbá Hp2-2 esetén a primer sclerotizáló cholangitis előfordulása szignifikánsan gyakoribb az *I-1* fenotípushoz képest (6,5%; 0,0%, p=0,039). Colitis ulcerosa esetén nem találtunk összefüggést.

Coeliákiában a Hp2-1 fenotípus szignifikánsan gyakrabban fordul elő, mint az átlagnépességben (Hp*I-1*: 7,5% vs. 11,5% , Hp2-1: 60,7% vs. 46,1% Hp2-2: 31,8% vs. 42,4%; p<0.001, OR_{Hp2-1 vs. egyéb}: 2.13 95% 1.64-2.76). A Hp2-2 fenotípus esetén nagyobb valószínűséggel alakul ki súlyos általános állapothoz vezető tünetegyüttes (malabsorptio, hypotrophia, 51,4%), mint a Hp2-1 (26,7%) és *I-1* fenotípusnál (19,5%).

Eredményeink a haptoglobin polimorfizmus betegség módosító szerepére utalnak mind Crohn-betegségben, mind coeliakiában.

ANTIMIKROBIÁLIS ANTITESTEK VIZSGÁLATA:

653 IBD beteget és 100 egészséges kontroll egyént vizsgáltunk. Az anti-Omp és ASCA meghatározás szérumból történt ELISA (QUANTA Lite, INOVA), az ANCA meghatározás indirekt immunfluoreszcens mikroszkópos módszerrel (NovaLite, INOVA)-Anti-Omp, ASCA és atípusos P-ANCA antitestek 31,2%, 59,3% és 13,8%-ban voltak jelen a CD betegek, 24,2%, 13,7% és 48,5% az UC betegek, valamint 20%, 16% és 5,6%-ban a kontroll egyének szérumában. ASCA és anti-Omp pozitivitás korrelált a CD kialakulásának fokozott kockázatával ($OR_{ASCA}=7,65$, 95% CI: 4,37-13,4; $OR_{Omp}=1,81$, 95% CI: 1,08-3,05). Az anti-Omp és az ASCA a vékonybél érintettség és a nem-gyulladásos betegségforma szempontjából független rizikófaktornak bizonyultak a logisztikus regressziós analízisben, míg a műtéti kockázat és infliximab kezelésre adott válasz tekintetében nem. Szerológiai dózishatás volt kimutatható és a szerológiai válasz mértéke korrelált a sebészi beavatkozások szükségességével. Az ASCA és az anti-Omp antitestek jelenléte összefüggést mutatott a NOD2/CARD15 genotípussal. UC-ben fenotípus-szerotípus kapcsolatot nem találtunk.

A szerológia markerek hasznosnak bizonyultak a CD és az UC differenciál diagnosztikájában. Összefüggést tudtunk kimutatni a különféle mikrobiális komponensekkel szembeni reaktivitás és a betegség fenotípusa, valamint a NOD2/CARD15 genotípus között, ami alátámasztja a mikrobákkal szembeni megváltozott érzékelés szerepét a CD patogenezisében.

ANTINEUTROPHIL CYTOPLASMATICUS ANTITEST (pANCA) INDIREKT IMMUNFLUORESZCENS VIZSGÁLATA

204 IBD beteg (CD: 111, UC: 96) esetén vizsgáltuk az etanol fixált neutrophil szubsztrát mellett alkalmazott formalin fixált preparátum jelentőségét az atípusos pANCA indirekt immunfluoreszcens módszerrel (IIF) történő kimutatásban. Továbbá meghatároztuk a vizsgálat reprodukálhatóságát, illetőleg 4 különböző kereskedelmi forgalomban elérhető assay (INOVA Diagnostics, IMMCO Diagnostics, Euroimmun Labordiagnostika és Immunoconcepts) esetén két különböző laboratóriumban az interassay és interobserver variabilitást. Az IIF módszer mellett myeloperoxidase (MPO), proteinase 3 (PR3), elastase,

lactoferrin, cathepsin G, lysosyme és bactericidal permeability-increasing protein (BPI) elleni antitestek jelenlétét is vizsgáltuk (ELISA, Orgentec).

Az ANCA előfordulása UC-ben 54,7 % , míg CD-ben 21% volt. Az ANCA pozitív minták 75,0 illetve 78,4%-a volt atípusos pANCA. Klasszikus pANCA és cANCA előfordulást csekély mértékben észleltünk (1,3-9,5%). A κ -értékeket figyelembe véve a különféle, IIF ANCA assay-k között jelentős különbségeket észleltünk. Jobb egyezést találtunk az interobserver vizsgálatban.

Az IBD asszociált atípusos pANCA mintázat IIF vizsgálattal történő kimutatásában az etanol fixált neutrophil granulocyták mellett szükséges formalin-fixált preparátumok használata is. Az IIF vizsgálat gyakorlott vizsgálót igényel és nem minden ANCA assay alkalmas az atípusos pANCA kimutatására. Az anti-MPO, PR3 és egyéb ELISA vizsgálatok alkalmazása az IIF mellett nem jelent diagnosztikus segítséget az IBD asszociált pANCA kimutatásában.

PUBLIKÁCIÓK

1. Papp M, Lakatos PL; Hungarian IBD Study Group; Palatka K, Foldi I, Udvardy M, Harsfalvi J, Tornai I, Vitalis Z, Dinya T, Kovacs A, Molnar T, Demeter P, Papp J, Lakatos L, Altorjay I. Haptoglobin Polymorphisms Are Associated with Crohn's Disease, Disease Behavior, and Extraintestinal Manifestations in Hungarian Patients. *Dig Dis Sci.* 2007 Mar 15; [Epub ahead of print]
2. Papp M, Farkas A, Udvardy M, Tornai I. *Orv Hetil.* 2007;148(9):387-95. Bakteriális fertőzések májcirrhosisban. Papp M, Farkas A, Udvardy M, Tornai I. – *Orv Hetil* 148(9): 387-395
3. Papp M, Altorjay I, Lakatos PL Szerológiai vizsgálatok jelentősége gyulladásos bélbetegségekben. – *Orv Hetil* közlésre elfogadva
4. Papp M, Norman GL, Altorjay I, Lakatos PL. Relevance of serologic studies in inflammatory bowel inflammatory diseases. –submitted to *World J Gastroenterol*
5. Papp M, Altorjay I, Norman GL, Shums Z, Palatka K, Vitalis Zs, Foldi I, Lakos G, Tumpek J, Udvardy ML, Harsfalvi J, Fischer S, Lakatos L, Kovacs A, Bene L, Molnar T, Tulassay Zs, Miheller P, Veres G, Papp J, the Hungarian IBD Study Group, Lakatos PL. Sero-reactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, non-inflammatory disease behaviour and NOD2/CARD15 genotype, but not with risk for surgery in a Hungarian cohort of IBD patients – accepted for publication in *Inflammatory Bowel Disease*

ELŐADÁSOK

UEGW, 2006. október 21-25. Berlin

MGT, 48. Nagygyűlés, 2006. június 17-21. Szeged

Title:

Haptoglobin polymorphisms are associated with Crohn's disease, disease behaviour and extraintestinal manifestations in Hungarian patients

Authors & affiliations:

Maria Papp¹, Karoly Palatka¹, Ildiko Foldi¹, Miklos Udvardy², Jolan Harsfalvi³, Istvan Tornai¹, Zsuzsanna Vitalis¹, Tamas Dinya⁴, Agota Kovacs⁵, Tamas Molnar⁶, Pal Demeter⁷, Janos Papp⁸, Laszlo Lakatos⁹, Peter Laszlo Lakatos⁸ and the Hungarian IBD Study Group, Istvan Altorjay¹

¹Department of Gastroenterology, University of Debrecen, ²Department of Hematology, University of Debrecen, ³Clinical Research Center, University of Debrecen, ⁴1st Department of Surgery, University of Debrecen, ⁵1st Department of Medicine, Erzsebet Hospital, Budapest, Hungary, ⁶1st Department of Medicine, University of Szeged, ⁷Department of Gastroenterology, St Margit Hospital, Budapest, ⁸1st Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest, ⁹1st Department of Medicine, Csolnoky F. County Hospital, Veszprem

Abstract:**Objectives:**

Functional differences were found among three major haptoglobin (Hp) phenotypes and Hp polymorphism was reported to be associated with the risk and clinical course of different inflammatory diseases. Our aim was to investigate the Hp polymorphism in Hungarian patients with inflammatory bowel disease (IBD).

Methods:

511 IBD patients were investigated (Crohn's disease [CD]: 468, m/f: 233/235, duration 8.2±6.7 yrs, and ulcerative colitis [UC]: 43, m/f: 22/21, duration: 9.5±10.6 yrs) and 384 healthy subjects served as controls. Hp phenotypes were determined by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis in the sera followed by immunoblotting. Detailed clinical phenotype was determined by reviewing the medical charts.

Results:

The frequency of Hp¹ allele was significantly higher in CD (0.3951) compared to controls (0.3451; OR: 1.24, 95%CI: 1.02-1.52, p=0.03) and UC (0.314, p=NS). In CD, Hp phenotype was associated with disease behaviour (B1 and B2, in Hp 1-1 and 2-2: 36.6%-34.3% and 32.4%-32.5% vs. in Hp 2-1: 44.9% and 20.3%; OR_{B1Hp1-1}: 2.06, 95%CI: 1.29-3.28). Furthermore, Hp 2-2 was associated with an increased frequency of primary sclerosing cholangitis (PSC), compared to the 1-1 genotype (6.5% vs. 0.0%, p=0.039). No associations were found in UC. **Conclusions:** The frequency of Hp¹ allele was significantly higher in CD, and Hp phenotype was associated to the behavior and frequency of PSC, exhibiting a disease-modifier effect.

MGT, 48. Nagygyűlés, 2006 június 17-21, Szeged

Cím:

A HAPTOGLOBIN POLYMORPHISMUS VIZSGÁLATA A KRÓNIKUS CHOLESTATIKUS MÁJBETEGSÉGEKBEN

Szerzők:

Papp M, Tornai I, Palatka K, Altorjay I, Lakatos P, Szalay F, Udvardy M.

Abstract:

Bevezetés:

A haptoglobin (Hp) egy haemkötő glycoprotein, melynek komoly antioxidáns és immunmoduláns hatása van. Genetikailag két allél (Hp1 és Hp2) kódolja és három fenotípusa ismert (Hp1-1, 2-1 és 2-2). Az antioxidáns hatás a Hp1 allél jelenlétében sokkal kifejezettebb, mint a Hp2 esetében. A Hp polymorphismus számos gyulladási betegség lefolyását befolyásolhatja.

Célkitűzés:

A Hp polymorphismus vizsgálata primer biliaris cirrhosis (PBC) és primer sclerotizáló cholangitis (PSC) eseteiben.

Beteganyag és módszerek:

Több hepatológiai centrumban gondozott PBC-ben (n: 65, nő/férfi 65/0) és PSC-ben (n: 27, nő/ffi: 7/20) szenvedő beteg szérumból történtek a Hp vizsgálatok. A PBC-ben a betegek átlagos életkora 60 ± 12 év, PSC-ben 25 ± 9 év volt. Kontrollként 384 egészséges önkéntes széruma szerepelt az allél frekvencia megállapításához. A Hp fenotípusokat SDS-polyacrylamid gel electrophoresissel vizsgáltuk.

Eredmények:

PBC-ben a Hp1-1 fenotípus 10.8 %, a Hp2-1, 44.6 % a Hp2-2 fenotípus 44.6 % gyakorisággal fordult elő, ez nem különbözött a kontroll csoport hasonló eredményeitől (11.5%, 46.1%, 42.4%). Ha a szövettani súlyosság szerint csoportosítottuk a PBC betegeket, akkor a cirrhotikus csoportban Hp1-1 fenotípust nem találtunk, Hp2-1 (33%) és a Hp2-2 (67%) volt. A cirrhosisal nem járó betegek között a Hp1-1 fenotípus: 13.2 %, Hp2-1 fenotípus: 50% és a Hp2-2 fenotípus 34.2% volt. A két csoport között a különbség szignifikáns ($p < 0.05$). PSC-ben szintén nem találtunk Hp1-1 fenotípust, míg a Hp2-1 fenotípus 44.4% és a Hp2-2 fenotípus 55.6%-ban fordult elő. PSC-ben a kontroll csoporthoz viszonyítva a Hp1 allél frekvenciája szignifikánsan kisebb (0.22 vs. 0.35), míg a Hp2 allél frekvenciája szignifikánsan nagyobb (0.78 vs. 0.65, $p < 0.05$).

Következtetések:

A kisebb antioxidáns kapacitással rendelkező Hp2 allél dominanciáját találtuk az összes PSC-s és a súlyosabb klinikai állapottal jellemezhető PBC-s betegeknél. Feltételezzük, hogy a Hp polymorphismusnak szerepe lehet a két immunopathogenezisű májbetegség lefolyásában.

XIII FALK LIVER WEEK, 2006. október 6-11. Freiburg

Title:

Haptoglobin and myeloperoxidase promoter polymorphism in primary biliary cirrhosis

Authors & affiliations:

Maria Papp¹, Peter Laszlo Lakatos², Miklos Udvardy³, Ildiko Foldi¹, Jolan Harsfalvi⁴, Istvan Balogh⁴, Istvan Altorjay¹, Tamas Dinya⁵, Andrzej Habior⁶, Ferenc Szalay², Istvan Tornai¹

¹Department of Gastroenterology, University of Debrecen, Debrecen ², ¹st Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest ³Department of Hematology, University of Debrecen, ⁴Clinical Research Center, University of Debrecen, ⁵¹st Department of Surgery, University of Debrecen, ⁶Department of Gastroenterology, Medical Centre for Postgraduate Education, Warsaw

Abstract:

Introduction:

Genetic factors involved in oxidative processes have been implicated in the pathogenesis of different liver diseases and their progression to cirrhosis. Haptoglobin (Hp) is a haem-binding glycoprotein with important antioxidant and immunomodulant activity. On the contrary, myeloperoxidase (MPO) is capable of producing powerful oxidants, like hypochlorous acid. We investigated Hp and MPO -463G/A promoter polymorphism in patients with primary biliary cirrhosis (PBC).

Methods:

One hundred and twenty-three PBC patients (m/f: 2/121, mean age: 59.7±10.9 yrs) were studied. Hp phenotypes (n=60) were determined by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis in the sera followed by immunoblotting. MPO polymorphism (n=102) was assessed by PCR-RFLP analysis.

Results:

The distribution of Hp phenotypes *1-1*, *2-1* and *2-2* does not differ from the results of the control population; but associated with disease behaviour. Considering the severity of the histological findings, the Hp *2-2* phenotype was more common in patients with cirrhosis than in those without (66.7% vs. 41.2%; p<0.05). Furthermore, patients with Hp *2-2* have significantly higher IgM levels (5.5 ± 5.1) than of the other phenotypes (*2-1*: 3.6 ± 2.4, *1-1*: 4.3 ± 2.0 g/l; p<0.05). The MPO genotypes GG, GA and AA are not associated with PBC or its progression to cirrhosis.

Discussion / Conclusion:

The occurrence of Hp *2-2*, known to have limited antioxidant and display more vigorous immune responses compared to the other phenotype, was significantly higher in patients with more severe disease. Our findings suggest that Hp polymorphism may exhibit a disease-modifier effect in PBC.

CONGRESS OF THE EUROPEAN CROHN'S AND COLITIS ORGANISATION (ECCO)
2007. March 1-3 Innsbruck, Austria
MGT, 49. Nagygyűlés, 2007. június, Tihany

Title:

Sero-reactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, non-inflammatory disease behaviour and NOD2/CARD15 genotype, but not response to medical therapy or risk for surgery

Authors & affiliations:

Maria Papp¹, Istvan Altorjay¹, Gary L. Norman², Zakera Sums², Karoly Palatka¹, Zsuzsanna Vitalis¹, Ildiko Foldi¹, Gabriella Lakos³, Judit Tumpek³, Miklos L. Udvardy⁴, Jolan Harsfalvi⁴, Simon Fischer⁵, Laszlo Lakatos⁶, Agota Kovacs⁷, Laszlo Bene⁷, Tamas Molnar⁶, Zsolt Tulassay⁸, Pal Miheller⁸, Janos Papp⁹, the Hungarian IBD Study Group, Peter Laszlo Lakatos⁹

¹2nd Department of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, ² INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, USA, ³ Laboratory of Clinical Immunology, University of Debrecen, ⁴ Clinical Research Center, University of Debrecen, Debrecen, ⁵ 1st Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest, ⁶ 1st Department of Medicine, Csolnoky F. County Hospital, Veszprem, ⁷ 1st Department of Medicine, Erzsebet Hospital, Budapest, ⁸ 1st Department of Medicine, University of Szeged, Szeged, ⁹ 2nd Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest, Hungary

Abstract:

Introduction:

Antibodies directed against *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) and perinuclear component of neutrophils (P-ANCA) have been widely studied and may be of diagnostic importance in inflammatory bowel diseases. More recently the porin protein C of *Escherichia coli* (anti-OmpC) has been associated disease phenotype in some studies. Since limited data are available from Eastern Europe, our aim was to assess the frequency of the above antibodies in a large cohort of Hungarian IBD patients.

Methods:

653 unrelated IBD patients (CD: 558, m/f:262/295, duration: 8.1±10.7years and UC: 95, m/f:44/51, duration: 8.9±9.8years) and 100 healthy subjects were investigated. Sera were assayed for anti-Omp, ASCA by ELISA (Quanta Lite, INOVA, USA) and P-ANCA by IIF (Nova Lite, INOVA, USA). TLR4 D299G variants were tested by PCR-RFLP. DNA was screened for NOD2/CARD15 mutations by denaturing-HPLC. Detailed clinical phenotype was determined by reviewing the medical charts.

Results:

Anti-Omp, ASCA and ANCA antibodies were present in the sera from 31.2%, 59.3% and 13.6% of CD, 24.2%, 13.7% and 48.5% of UC patients and in 20%, 16% and 5.6% of control subjects. ASCA and anti-Omp positivity was associated with increased risk for CD (OR_{ASCA}=7.65, 95%CI: 4.37-13.4; OR_{OmpC}=1.81, 95%CI: 1.08-3.05). Anti-Omp was associated with younger age at onset (p=0.025), longer disease duration (p=0.01), non-inflammatory disease behavior (p<0.0001), ocular manifestation (p=0.019) and need for surgery (p<0.0001), while ASCA was associated to ileal involvement (p<0.0001), non-inflammatory (p<0.0001)/penetrating (p=0.004) disease behavior, younger age at onset (p<0.0001) and need for surgery (p=0.004). However, in a logistic regression analysis Omp or ASCA were not independent risk factors for surgery and there was no association of antibody status to response to steroids or infliximab. In contrast, the presence of ASCA and Omp antibodies was

associated with NOD2/CARD15 genotype. No phenotype-serotype associations were found in UC.

Discussion / Conclusion:

We confirmed that serology markers were useful in the differentiation between CD and UC in an Eastern European IBD cohort. Reactivity to microbial components was associated with younger age at onset, ileal involvement, non-inflammatory disease behavior and NOD2/CARD15 genotype but not to response to medical therapy or risk for surgery.

UEGW, 2007. október, Párizs
MGT, 49. Nagygyűlés, 2007. június, Tihany

Title:

DETECTION OF ANTINEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODIES IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

Authors & affiliations:

Papp M¹, Tumpek J², Lakatos PL³, Lakos G¹, Shums Z⁴, Sipka S¹, Altorjay I², Norman GL⁴

¹ 2nd Department of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, ² Laboratory of Clinical Immunology, University of Debrecen, Debrecen, ³ 1st Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest, ⁴ INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, USA

Abstract:**Introduction:**

Despite methodological difficulties, perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody (P-ANCA) is often screened in IBD patients for its clinical value. The antigen specificity of this atypical P-ANCA is different from the vasculitis associated classic P-ANCA, but the distinction of the two patterns on ethanol-fixed neutrophil substrate by indirect immunofluorescence (IIF) is difficult.

Methods:

We analyzed the utility of applying formaldehyde-fixed neutrophils adding to ethanol ones in the detection of atypical P-ANCA in 204 IBD patients (CD: 111, UC: 96). Furthermore, we determined the reproducibility, interassay- and interobserver variability of both fixation methods comparing four different commercially available assays (INOVA Diagnostics, IMMCO Diagnostics, Euroimmun Labordiagnostika and Immunoconcepts) in two distinct laboratories. We also added myeloperoxidase (MPO), proteinase 3 (PR3), elastase, lactoferrin, cathepsin G, lysosyme and bactericidal permeability-increasing protein ELISAs (Orgentec) to the IIF.

Results:

Atypical P-ANCA was detected in 41.1% of patients with UC and 16% with CD. 75.0% and 78.4% of all the detected ANCA positivity was atypical P-ANCA in patients with UC and CD, respectively. The occurrences of classic P-ANCA and C-ANCA pattern were insignificant (1.3-9.5%). On the basis of κ -values, the differences among the commercially available substrates for ANCA detection were remarkable. Better agreement was found in the interobserver study.

Discussion / Conclusion:

The IBD associated atypical P-ANCA pattern is most reliably differentiated by testing sera on both ethanol and formalin-fixed neutrophil slides. However, it is technically demanding, subjective, and requires experienced observers for good interpretation. Not all ANCA assays are suitable for the detection of these antibodies and the use of MPO, PR3 and other ELISAs may be unnecessary.

PÉNZÜGYI BESZÁMOLÓ

1. SZEMÉLYI KÖLTSÉGEK, KONGRESSZUSI RÉSZVÉTEL: 97 000 FT
2. ESZKÖZBERUHÁZÁS: NEM VOLT
3. FOGYÓESZKÖZ-ANYAG FELHASZNÁLÁS: 859 835 FT

ÖSSZESEN: 956 835 FT

Tisztelettel:

Dr. Papp Mária

Debrecen, 2007-03-20