

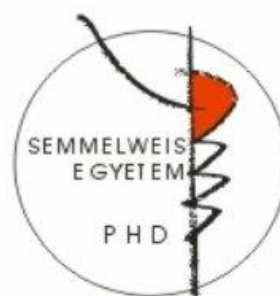
DOI:10.14753/SE.2017.2257

# A komplement rendszer aktivációjának vizsgálata isztkémias szívbetegeég stabil formájában

Doktori értekezés

**Dr. Horváth Zsófia**

Semmelweis Egyetem  
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kiss Róbert Gábor, DSc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Habon Tamás, Ph.D, egyetemi docens  
Dr. Sax Balázs, Ph.D, egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Karádi István, DSc., egyetemi tanár  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Masszi Gabriella, Ph.D, főorvos  
Dr. Becker Dávid, Ph.D, egyetemi docens

Budapest  
2016

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>1. BEVEZETÉS .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1. Stabil angina pectoris .....</b>	<b>6</b>
1.1.1. Stabil angina pectoris jellemzése .....	6
1.1.2. Stabil angina pectoris kivizsgálás .....	7
1.1.3. Stabil angina pectoris makroszkóposan ép koszorúserekkel .....	8
1.1.4. Stabil angina pectoris kezelése .....	10
<b>1.2. A komplement rendszer .....</b>	<b>11</b>
1.2.1. A komplement rendszer aktivációja .....	11
1.2.2. A komplement rendszer szabályozása.....	16
1.2.3. A komplement rendszer és az endotélium.....	17
1.2.4. A komplement rendszer szerepe az ateroszklerózis kialakulásában .....	18
1.2.5. Komplement aktiváció kardiovaszkuláris kórképekben és vaszkuláris beavatkozások során .....	20
<b>2. CÉLKITŰZÉSEK .....</b>	<b>24</b>
<b>3. MÓDSZEREK .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1. Betegcsoportok .....</b>	<b>26</b>
<b>3.2. Laboratóriumi vizsgálati módszerek.....</b>	<b>27</b>
3.2.1. Mintavétel.....	27
3.2.2. Komplement aktivációs termékek és a lektin út produktumainak meghatározása.....	28
3.2.2.1. C1rC1sC1-INH meghatározása .....	28
3.2.2.2. C3bBbP meghatározása .....	28
3.2.2.3. SC5b-9 meghatározása.....	29
3.2.2.4. A fikolin-2 és fikolin-3 meghatározása.....	29
3.2.2.5. A MAP-1 meghatározása .....	30
3.2.2.6. A fikolin-3/MASP-2 komplex meghatározása.....	30
3.2.2.7. A fikolin-3 által közvetített TCC-depozíció meghatározása .....	31
3.2.3. Statisztikai elemzés .....	31

<b>4. EREDMÉNYEK</b> .....	<b>33</b>
<b>4.1. Komplement aktiváció vizsgálata és az aktivációs termékek prediktív értékének tisztázása iszkémiás szívbetegség stabil formájában</b> .....	<b>33</b>
4.1.1. Demográfiai adatok .....	33
4.1.2. Komplement aktivációs termékek felvételi értékének elemzése.....	36
4.1.3. C1rC1sC1-INH prediktív értékének meghatározása.....	37
<b>4.2. Komplement aktiváció vizsgálata invazív koronária beavatkozás során</b> ..	<b>39</b>
4.2.1. Demográfiai adatok .....	39
4.2.2. Komplement aktiváció vizsgálata elektív stabil angina pektorisban végzett invazív koronária beavatkozás során.....	42
4.2.3. Komplement aktiváció vizsgálata akut ST-elevációs miokardiális infarktuszban végzett invazív koronária beavatkozás során.....	44
<b>4.3. Komplement aktiváció vizsgálata makroszkóposan ép koszorúserekkel rendelkező stabil angina pektorisban</b> .....	<b>46</b>
4.3.1. Demográfiai adatok .....	46
4.3.2. Lektin út produktumai .....	48
4.3.3. A lektin út produktumainak elemzése a kardiovaszkuláris rizikótényezők és a gyógyszeresedés vonatkozásában.....	50
<b>5. MEGBESZÉLÉS</b> .....	<b>52</b>
<b>5.1. Komplement aktiváció vizsgálata és az aktivációs termékek prediktív értékének tisztázása iszkémiás szívbetegség stabil formájában</b> .....	<b>52</b>
<b>5.2. Komplement aktiváció vizsgálata invazív koronária beavatkozás során stabil angina pektoris esetén</b> .....	<b>55</b>
<b>5.3. Komplement aktiváció vizsgálata primer PCI során ST-elevációs akut koronária szindrómában</b> .....	<b>59</b>
<b>5.4. Komplement aktiváció vizsgálata makroszkóposan ép koszorúserekkel rendelkező stabil angina pektorisban</b> .....	<b>61</b>
<b>6. KÖVETKEZTETÉSEK</b> .....	<b>65</b>
<b>7. ÖSSZEFOGLALÁS</b> .....	<b>67</b>
<b>8. IRODALOMJEGYZÉK</b> .....	<b>69</b>
<b>9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE</b> .....	<b>85</b>
<b>10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</b> .....	<b>86</b>

## **RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE**

**ABTS** - azino-bis-etilbenzotiazolin-szulfátsav

**BMI** - body mass index, testtömeg-index

**BMS** - bare metal stent, fémszent

**BSA** - bovine serum albumin, szarvasmarha szérum albumin

**C1-INH** - C1-inhibitor

**CHD** - coronary heart disease, szívkoszorúér megbetegedés

**CABG** - coronary artery bypass graft, aorto-koronáriás áthidaló műtét

**CEA** - carotid endarterectomy, artéria karotis endarterektomia

**CRP** - C-reaktív protein

**DAF** - decay accelerating factor

**DES** - drug-eluting stent, gyógyszerkibocsájtó sztent

**DNA** – deoxyribonucleic acid, dezoxiribonukleinsav

**EDTA** - etilén-diamin-tetraecetsav

**HC** - healthy controls, egészséges kontroll csoport

**HGF** - hepatocyte growth factor, hepatocita eredetű növekedési faktor

**HPC** - human progenitor cells, humán progenitor sejt

**HUVEC** - human umbilical vein endothelial cells, humán umblikális véna endotélsejt

**IGF-1** - Insulin-like growth factor 1, inzulin-szerű növekedési faktor-1

**MAC** - membran attack complex, membrán attack komplex

**MBL** - mannose-binding protein, mannóz kötő lektin

**MAP** - mannose-binding lectin/ficolin-associated protein, mannóz kötő lektin/fikolin -  
asszociált protein

**MASP** - MBL/ficolin-associated serine proteases, mannóz kötő lektin/fikolin-asszociált  
szerin proteáz

**MMP** - mátrix metalloproteáz

**NC** - negative coronarography, negatív koronarogramm

**NO** - nitrogén-monoxid

**OPD** - o-fenilenediamin dihidroklorid

**PBS** - phosphate buffered saline, foszfát pufferolt sóoldat

**PC** - positive coronarography, pozitív koronarogramm

**PCI** - percutaneous coronary intervention, perkután koronária intervenció

**POBA** - percutaneous balloon angioplasty, perkután ballonos angioplasztika

**PTP** - pre-test probability, pre-teszt valószínűség

**SAP** - stabil angina pectoris

**SD** - standard deviáció

**STEMI** - ST-elevációs miokardiális infarktus

**TCC** - terminal complement complex, terminális komplement komplex

**TF** - tissue factor, szöveti faktor

**TMB** - tetra-metil-benzidin

**VCAM-1** - vascular cell adhesion molecule-1, vaszkuláris sejt adhéziós molekula-1

## 1. BEVEZETÉS

A kardiovaszkuláris halálozás napjainkban az egész világon, így Magyarországon is vezető halálok, melynek hátterében az ateroszklerózis talaján kialakult iszkémiás szívbetegség áll. Ismert, hogy az ateroszklerózis multifaktoriális megbetegedésnek tekintendő, mind a genetikai predispozíció, mind a környezeti hatások szerepet játszanak kialakulásában. Számos különböző elmélet született patofiziológiájának magyarázatára. Napjaink legelfogadottabb nézete szerint az aterogenezis egy lassú, krónikus gyulladáshoz vezető folyamat, és így a komplement aktiváció fontos szerepet játszik kialakulásában és progressziójában. A komplement rendszer a humorális immunválasz része, nélkülözhetetlen az egészséges immunrendszer működésében, az immunregulációban és az immunhomeosztázis fenntartásában. Kardiovaszkuláris vonatkozása csak az elmúlt évtizedekben vált ismertté és így intenzíven kutatott ígéretes új területté. Mindezek alapján jelen munka célkitűzése az iszkémiás szívbetegség stabil formájában létrejövő komplement aktiváció elemzése volt. A következőkben az ateroszklerotikus koronária betegség és a komplement rendszer részletes bemutatására kerül sor.

## **1.1. Stabil angina pectoris**

A kardiovaszkuláris rizikófaktorok magas előfordulási aránya és a népegészségügyi adatok alapján, közel négyszázezer angina pectorisban szenvedő beteg él ma Magyarországon. Az iszkémiás szívbetegek jelenleg inkább az iparilag fejlett országokat érinti, de előrejelzések szerint a következő évtizedre már az egész világon komoly egészségügyi problémát fog okozni, 2020-ra vezető halálok lehet.

Az iszkémiás szívbetegek patofiziológiai alapját az aterotrombotikus folyamatok képezik. A Framingham Tanulmány [1] és több nagy multicentrikus vizsgálat eredményei azonosították a major kardiovaszkuláris rizikótényezőket: a hiper- és diszlipidémiát, a hipertóniát, dohányzást, cukorbetegséget, elhízást, a fizikai aktivitás hiányát, a túlzott pszichés stresszt és a férfi nemet. Intenzív kutatások számos egyéb, frissen felfedezett rizikófaktort is leírtak, úgymint a hiperhomociszteinémiát [2], az emelkedett lipoprotein a (Lpa) szintet [3] és a fibrinolitikus rendszer eltéréseit [4].

### **1.1.1. Stabil angina pectoris jellemzése**

Az iszkémiás szívbetegek leggyakrabban előforduló megjelenési formája a stabil angina pectoris. Az iszkémia lényege, hogy aktuálisan a vérellátásban és a metabolikus igényben aránytalanság keletkezik, mely reverzibilis miokardium károsodásban nyilvánul meg. Indukálható terheléssel, emocionális- és egyéb stresszel, továbbá reprodukálható, tehát non- invazív vizsgálatokkal ismételtén provokálható. Fontos azonban kiemelni, hogy spontán, minden előzmény és kiváltó tényező nélkül is létrejöhet [5].

A miokardium iszkémiát létrehozhatja az epikardiális koszorúerek stenózisa, mikrovaszkuláris diszfunkció, az epikardiális koszorúerek fokális-, vagy diffúz spazmusa, vagy ezen elváltozások kombinációja. Az iszkémiás területen jellemző, hogy a vénás vér hidrogén és kálium szintje emelkedik, az EKG-n ST-T eltérések jelentkeznek, típusos anginás mellkasi fájdalom lép fel és lokális falmozgászavar mutatható ki [5].

Típusos anginás panasz esetén retrosternális mellkasi fájdalom lép fel terhelésre, vagy emocionális stressz hatására és pihenésre, vagy nitrát alkalmazására percek

belül megszűnik. Atípusos esetben ebből a három kritériumból kettő teljesül, míg nem anginás eredetű mellkasi panasz esetén egy sem. Az angina pektoris súlyosságának megítélésére a Kanadai Kardiovaszkuláris Társaság (Canadian Cardiovascular Society, CCS) osztályozását használjuk a gyakorlatban [6].

Stabil angina pektoris a kockázati tényezők megfelelő kontrolljával, az optimális preventív gyógyszeres kezeléssel és szigorú követéssel alapvetően jól kezelhető kórkép. Ebben a betegcsoportban a miokardiális infarktus éves gyakorisága kevert népesség körében 0.5- 2.6 %, míg az éves halálozás 1.2- 1.4 % -ra tehető. Természetesen a kimenetel jóval rosszabb csökkent szisztolés bal kamra funkció, súlyos - proximális lézió, idősebb kor, több-ág érintettség esetén [5].

### **1.1.2. Stabil angina pektoris kivizsgálása**

A diagnózis felállításának alapja a részletes anamnézis felvétele, laboratóriumi vizsgálatok, nyugalmi, 12 elvezetéses EKG- vizsgálat és nyugalmi echokardiográfia, valamint egyes, atípusos tünetek esetén kétirányú mellkasröntgen elvégzése. Emellett, a mellkasi fájdalommal jelentkező betegek esetében a miokardium iszkémia igazolására objektív módszerekre is szükség van. Ezen non- invazív képalkotó technikák szenzitivitása és specificitása is 85 % -ra tehető. Fontos tehát a megfelelő „pre-teszt valószínűség” (PTP) felmérése, és a további non- invazív vizsgálatok ez alapján történő elvégzése [7].

Alacsony és közepes kockázati csoportban elsősorban terheléses EKG- vizsgálat javasolt, mely során a terhelés provokálta ST- szakasz változást és a terhelés provokálta panaszokat értékeljük. Ezt követően lehetőség nyílik terheléssel (amely lehet dinamikus, illetve farmakológiai) kombinált egyéb képalkotó módszerekre, mint terheléses echokardiográfia és terheléses szívizomszcintigráfia elvégzésére. Előnyük, hogy alkalmasak a miokardium iszkémia lokalizációjának és súlyosságának megítélésére, míg hátrányuk a szűk hozzáférés és a magas ár.

A non- invazív kivizsgálás eredményei és a klinikai prezentáció, bal kamra funkció és az esetlegesen rendelkezésre álló koronária anatómia alapján rizikó stratifikálásra van szükség. Három kockázati csoportot különböztetünk meg: alacsony (éves mortalitás <1%), közepes (éves mortalitás > 1%, de <3%) és magas (éves mortalitás > 3%)



kockázati csoportot. Az alacsony kockázati csoportban megfelelő anti-anginás gyógyszeres kezelés bevezetésre van szükség, csak tünetek súlyosbodása és intenzifikált kezelés ellenére progrediáló mellkasi panaszok esetén szükséges az invazív kardiológiai kivizsgálás. Közepes kockázati csoportban, figyelembe véve a meglévő társbetegségeket és kardiovaszkuláris rizikótényezőket, az invazív kivizsgálás megfontolandó. A magas kockázati csoportba sorolt betegek egyértelműen profitálnak a korai invazív diagnosztika és a korai revaszkularizáció elvégzéséből [8].

A koronarográfia alkalmas a koszorúerek szűkületének, lokalizációjának és súlyosságának megítélésére, fontos azonban hangsúlyozni, hogy statikus, anatómiai információt nyújt, önmagában nem igazolja, hogy az adott szűkület okoz-e miokardium iszkémiát, így mindig a non-inavzív vizsgálatok eredményeivel együtt szükséges értékelni.

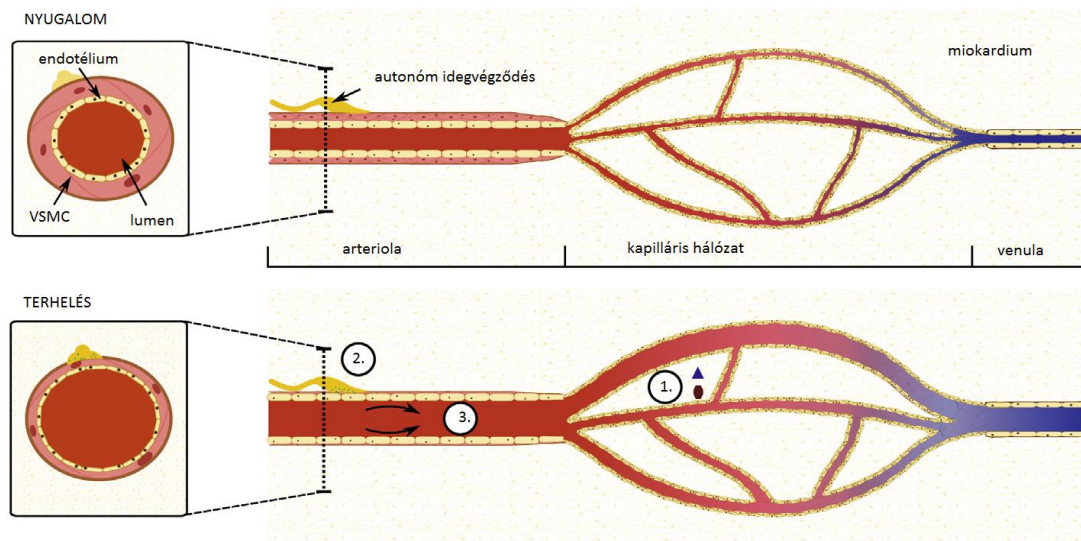
### **1.1.3. Stabil angina pectoris makroszkóposan ép koszorúerekkel**

Típusos mellkasi panaszok és pozitív iszkémia provokáció miatt invazív kardiológiai kivizsgálásra kerülő betegek egy részénél a koronarográfia makroszkóposan ép koszorúereket igazol. Ezen betegcsoport az irodalomban „kardiális X-szindrómaként” is ismert [9]. Jellemző, hogy a kórkép gyakrabban fordul elő nők esetében. Egyes irodalmi adatok alapján a típusos mellkasi fájdalmak miatt invazív kivizsgálásra kerülők nők közel felénél, míg a férfiak egyharmadánál nincs kimutatható obstruktív koronária elváltozás [10, 11]. Habár évtizedekig tartotta magát az a nézet, hogy ez egy benignus, kiváló prognózisú kórkép, mely csupán életminőségbeli romlást képes okozni, az elmúlt évek több, nagy betegszámú prospektív tanulmánya alapján magasabb kardiovaszkuláris rizikó igazolódott az 5 éves kardiovaszkuláris események vonatkozásában [12], [13]. A magasabb kardiovaszkuláris kockázat mellett a betegek körében nagyobb a valószínűsége a későbbiekben kialakuló inzulin rezisztenciának, diszlipidémiának és hipertóniának is [14].

Patofiziológiája a mai napig intenzíven kutatott terület, azonban továbbra sem alakult ki egységes álláspont. A két legelfogadottabb nézet értelmében a jelenség hátterében a koronáriák mikrovaszkuláris károsodása, továbbá kóros miokardiális fájdalomérzékelés állhat [15, 16, 17, 18]. Koronária mikrovaszkuláris diszfunkció már

olyan korai stádiumban is észlelhető, mikor még definitív obstruktív koronária betegség nincs jelen. Gyakorlatilag ekkor a tradicionális rizikófaktorok (dohányzás, diszlipidémia, hipertónia, diabétesz mellitusz) okozta károsodás funkcionális jelének tekintendő [19]. A folyamat az esetek egy részében ekkor még visszafordítható a rizikófaktorok megfelelő kezelésével és kontrolljával.

A patomechanizmust érintően ismert, hogy a koronáriák kis arterioláinak szintjén (<500  $\mu\text{m}$  átmérő) csökkent a vazodilatációs képesség. Ezek az erek túl kicsik ahhoz, hogy a hagyományos koronarográfia során vizualizálni lehessen őket. Elméletben fizikai terhelés során ezek az erek nem képesek a fokozódó kardiális terheléssel párhuzamosan kitágulni és így relatív hipoperfúzió alakul ki a miokardiumban, anginás tüneteket okozva. A csökkent vazodilatációs képesség pontos mechanizmusa a mai napig kutatott terület. Az endoteliális diszfunkció mellett a pro-inflamatorikus szignál mechanizmusok növelik a sejtszintű oxidatív stresszt és csökkentik a bioaktív NO és prosztaciklin szintézist (1.ábra).



**1. ábra: Terhelés indukálta koronária mikorvaszkuláris dilatáció.** Terhelés során a vaszkuláris simaizomsejtek az arteriolák falában elernyednek, ezáltal megnő az ér átmérője és a véráramlás. Ennek lépései a következők: 1. A kardiomiociták által termelt metabolitok az arteriolák vazodilatációját és ezzel emelkedett kapilláris áramlást hoznak létre. 2. A szimpatikus autonóm idegrendszer a  $\beta_2$  receptorok aktivációja által vazodilatációt vált ki. 3. Lamináris nyírőerő áramlás-mediálta vazodilatációt hoz létre a vazoaktív mediátorok (NO, prosztaciklin) közvetítésével. *Eredeti kép forrása: Dollard et al. BBI; 43 (2015) 27-32.(Letöltve: 2016.03.18.).*

#### 1.1.4. Stabil angina pectoris kezelése

Stabil angina pectoris kezelésének kettős célja van: egyrészt a prognózis javítása az akut trombotikus esemény és a bal kamra diszfunkció, így a miokardiális infarktus megelőzésével, másrészt a mellkasi fájdalmak előfordulásának csökkentése és megszüntetése. A kezelés komplex, életmódváltásból, antianginás gyógyszeres kezeléssel, valamint megfelelő indikáció esetén revaszkularizációs terápiából áll.

Az életmódváltás része az egészséges étrend bevezetése, a napi megfelelő fizikai aktivitás kialakítása, a dohányzástól való leszoktatás, a megfelelő tenzió-, lipid- és vércukorkontroll elérése.

Gyógyszeres kezelésnél megkülönböztetünk preventív és tünetcsökkentő gyógyszereket. Előzőek használatának célja az ateroszklerotikus plakk progressziójának megakadályozása, plakkstabilizáció elérése, plakkruptúra megakadályozása. A kezeléshez tartozik a trombocita aggregáció gátló alacsony dózisú ciklooxygenáz-gátló acetilszalicilsav (intolerancia esetén P2Y<sub>12</sub> gátló thienopiridinek), a lipidszinttől független sztatin, béta-blokkoló, valamint angiotenzin konvertáló enzim gátló (ACE-gátló) alkalmazása, különösen hipertónia, szívelégtelenség, balkamra-diszfunkció, anamnesztikus miokardiális infarktus esetén. Tünetcsökkentő gyógyszerek közül a sublingvális nitrátkészítmény alkalmazása a legelterjedtebb [8].

Revaszkularizációs stratégia esetén számos klinikai, anatómiai, technikai és környezeti tényezőt kell figyelembe venni. A döntésnek a szignifikáns koronária sztenózis, az iszkémia kiterjedése, a prognózis és a tünetek tekintetében várható előny gondos mérlegelésével kell megszületnie. A revaszkularizáció lehet perkután módon végzett intervenciós beavatkozás (PCI), vagy a szűkület megkerülése bypass műtéttel (CABG). Az alkalmazandó eljárásról úgynevezett „Heart Team” csoportnak kell döntést hozni, figyelembe véve az összes befolyásoló tényezőt és társbetegséget [8].

## 1.2. A komplement rendszer

A komplement rendszer a humorális immunválasz része, nélkülözhetetlen szerepet játszik az immunhomeosztázis fenntartásában, az exogén/endogén patogének ellen irányuló fiziológiás immunválaszban [20], valamint a keringő immunkomplexek és gyulladáshoz vezető termékek eliminálásában [21, 22]. A komplement rendszer már a XIX. század végén felismerésre került, 1899-ben *Paul Elrich* híres mikrobiológus nevezte el komplement-nek a „hőstabil baktericid faktort”. Az 1920-as évekre négy komplement fehérjét azonosítottak, elnevezésük a felfedezés sorrendjét követte.

Filogenetikailag a komplement rendszer fő funkciójának a patogének felismerését és eliminálását tartják, mely fagocitózissal vagy direkt sejtöléssel („killing” mechanizmus) jöhet létre. Az elmúlt évtized intenzív kutatásai során számos egyéb funkciójára is fényt derített. A komplement rendszer működése lényeges a megfelelő immunregulációhoz, a veleszületett- és szerzett immunitás között összekötő, szabályozó szereppel bír. Továbbá, a természetes antitestekkel együtt potenciózza az immunválaszt, melyet a szervezetbe kerülő alacsony dózisu antigének váltanak ki. Nélkülözhetetlen a keringő immunkomplexek és az apoptotikus sejtek eliminálásában, a szöveti regeneráció szabályozásában. Amennyiben ezek a funkciók károsodnak, kontrollálatlan, vagy nem megfelelő kiváltó tényező által aktivált folyamat indulhat be és (auto)-immun reakciók, krónikus gyulladáshoz vezető folyamatok és szövetkárosodás jöhet létre [23, 24].

A komplement rendszer kóros aktivációja tehát számos autoimmun kórkép (glomerulonefritisek, hemolitikus urémiás szindróma, reumatoid arthritisz, akut pankreatitisz) patofiziológiai alapját képezi [25]. Továbbá, kiemelkedően fontos szerepet játszik az ateroszklerózis és az iszkémia-reperfúziós károsodás, és így számos kardiovaszkuláris és cerebrális kórkép létrejöttében.

### 1.2.1. A komplement rendszer aktivációja

A komplement rendszer egy biokémiai kaskádrendszer, mely több, mint harminc keringő fehérjéből áll. Alkotóelemei jellemzően mindaddig inaktív proenzim formájában találhatóak a keringésben, míg proteázok hatására aktív formába nem kerülnek. Aktivációja három vonalon valósulhat meg: a klasszikus-, az alternatív- és a

lektin úton keresztül [20, 21, 22]. Az elmúlt években egy negyedik aktivációs út is leírásra került [26, 27].

A *klasszikus* út aktivációja antitest függő módon történik. A keringő IgM és IgG típusú immunkomplexek Fc alegységen keresztül történő antigén felismerése során kezdődik, így az első komplement fehérje, a C1 aktiválódik a C1q alegységen keresztül. A többi immunkomplex izotípusok, mint az IgA, IgE és IgD, nem képesek a komplement rendszert aktiválni ezen az úton keresztül. Ismert, hogy a C1q képes továbbá C-reaktív protein (CRP) [28], mátrix komponensek [29], apoptotikus sejtek [30], virális fehérjék és mitokondriális fragmentumok [31] megkötésére is. További konformációs változásokon keresztül, melyek a C1r és C1s szerin proteáz alegységek aktivációját jelentik, képződik az enzim, mely képes a kaszkárendszer következő komponensét, a C2 és a C4 fehérjéket aktiválni. Így létrejön a C4bC2a komplex, melyet „klasszikus út C3 konvertáznak” is nevezünk [24], [32], (2. ábra).

Az *alternatív* út antitesttől függetlenül, „idegen felszín” jelenlétében aktiválódik. Aktivációs szignálként baktériumok, vírusok, károsodott szövetek, CRP, poliszacharidok ismertek [31, 33]. Ekkor a C3 fehérje spontán hidrolízise valósul meg és felszínre kerül a molekulában található tioészter csoport. Az így keletkező C3b  $Mg^{++}$  jelenlétében megköti a faktor B-t. Ezt követően aktiválódik a faktor D, így C3 (H<sub>2</sub>O)Bb képződik. Ez a komplex, bár kis mennyiségben, de már képes a C3 hasítására, így C3a és C3b fehérjék képződnek. Ez a folyamat fiziológiás esetben csak nagyon alacsony szinten működik, az egészséges sejteknek több kontroll mechanizmusok ismert, mely védelmet biztosít a C3 fehérje spontán hidrolízise ellen. Nagymértékben nő azonban az aktiváció mértéke, amennyiben a C3b pozitív töltöttségű felszínnel találkozik (mely a mikroorganizmusokra jellemző) [34]. Ekkor a faktor B-vel interakcióba lépve létrejön a C3bBb komplex, az „alternatív út C3 konvertáz”, egyúttal az alternatív útra jellemző erősítő kör [35] (2. ábra). A képződő C3a egy erős kemoatraktáns, mely képes az eozinofil sejtek és mastociták szekrécióját aktiválni és a simaizomsejtek kontrakcióját indukálni.

A *lektin* út a fikolinok, és/vagy a mannóz-kötő lektin (MBL) mikroorganizmusok szénhidrát ligandjaihoz történő kötődése során aktiválódik. A fikolinok oligomer fehérjékből álló család, melyet N-terminális kollagén-szerű domain és C-terminális fibrinogén szerű domain alkot. Emberi szervezetben öt lektin út aktiváló

molekula ismert: MBL, fikolin-1 (M-fikolin), fikolin-2 (L-fikolin), fikolin-3 (H-fikolin, vagy Hakata antigén) és a kollektin-11 [36, 37]. A fikolin-2 döntően a májban expresszálódik, a fikolin-3-at az epeutak epitelsejtjei és a hepatociták termelik. A fikolin-1 kimutatható a tüdőben és a lépben, a keringésben viszont kisebb mennyiségben [38, 39]. A fikolinok az N-acetil tartalmat ismerik fel (pl. N-acetilglukozamint), aktiválódva a keringésben komplexet képeznek az MBL- asszociált szerin proteázokkal (MASP) [21]. Humán szervezetben három MASP ismert (MASP-1, MASP-2, MASP-3), a MASP-2 a lektin út legfőbb effektora. Aktiválódva képes a C4, majd C2 fehérjék hasítására, létrehozva a C4bC2a komplexet, azaz a „MBL/klasszikus út C3 konvertázt” [40], mely azonos a klasszikus úton keresztül képződő „C3 konvertázzal” (2. ábra).

Az elmúlt években egy újabb, negyedik aktivációs út is leírásra került, mely gyakorlatilag a koagulációs kaskád és a komplement rendszer közötti interakciót jelenti. Ismert, hogy a trombin, mely egy szerin-proteáz, képes dóziszfüggő módon a C3 és C5 fehérjék direkt hasítására, így biológiailag aktív C3a/C5a keletkezik [26]. Újabb eredmények alapján a Xa, XIa véralvadási faktorok és a plazmin is képes ezen komplement fehérjék proteolitikus hasítására [27]. Továbbá, a XIIa véralvadási faktor képes a klasszikus út aktivációjára C1q fehérjén keresztül.

Bármelyik úton keresztül történik is a kaskádszerű aktiváció, a C3 fehérje hasítása következik be. A klasszikus- és a lektin úton ugyanaz a C3 konvertáz jön létre, míg az alternatív úton egy eltérő enzim képződik. A hasítás során keletkező C3b fragmentumban egy tioészter kötés a felszínre kerül [41]. A tioészter csoport rendkívül reaktív és így reakcióba lép a vízzel, vagy a sejt felszínén szénhidrátokban és immunkomplexekben található nukleofil csoportokkal, ezáltal a C3b kovalensen megjelöli az adott sejtet [42]. A belső tioészter csoport felszínre kerülésével a C3b elvileg bármilyen sejt felszínéhez kapcsolódhat, beleértve a szervezet saját sejtjeit is. A komplement aktiváció itt válik „kétélű fegyverré”, ugyanis a C3b mikroorganizmusok és vírus fertőzött sejtek felszínéhez kapcsolódása kívánatos, de a szervezet saját sejtjeinek megjelölése potenciális veszélyeket hordoz. Ezt a veszélyt csökkenti, hogy a tioészter csoport nagyon rövid életidejű, és azonnal reagál vízzel. Tehát a C3b elméletileg csak az aktivációt kiváltó célsejt felszínéhez kötődhet. A szervezet saját sejtjei ezáltal védve vannak a C3b jelöléstől.

További lépésben a C5 fehérje hasítása során C5a és C5b komponensek képződnek. A C5a egy erős kemoatraktáns fehérje, mely többféle válaszreakciót vált ki. Kemotaxis révén gyakorlatilag az összes mieloid sejtvonal aktivációját fokozza, így a mastociták és a bazofil sejtek degranulációját, mely hisztamin és egyéb kemoatraktáns fehérjék felszabadulásához vezet. Ezáltal nő az érfal permeabilitása, bekövetkezik a fagociták degranulációja, pro-inflamatorikus citokinek és akut fázis fehérjék szintézise [43].

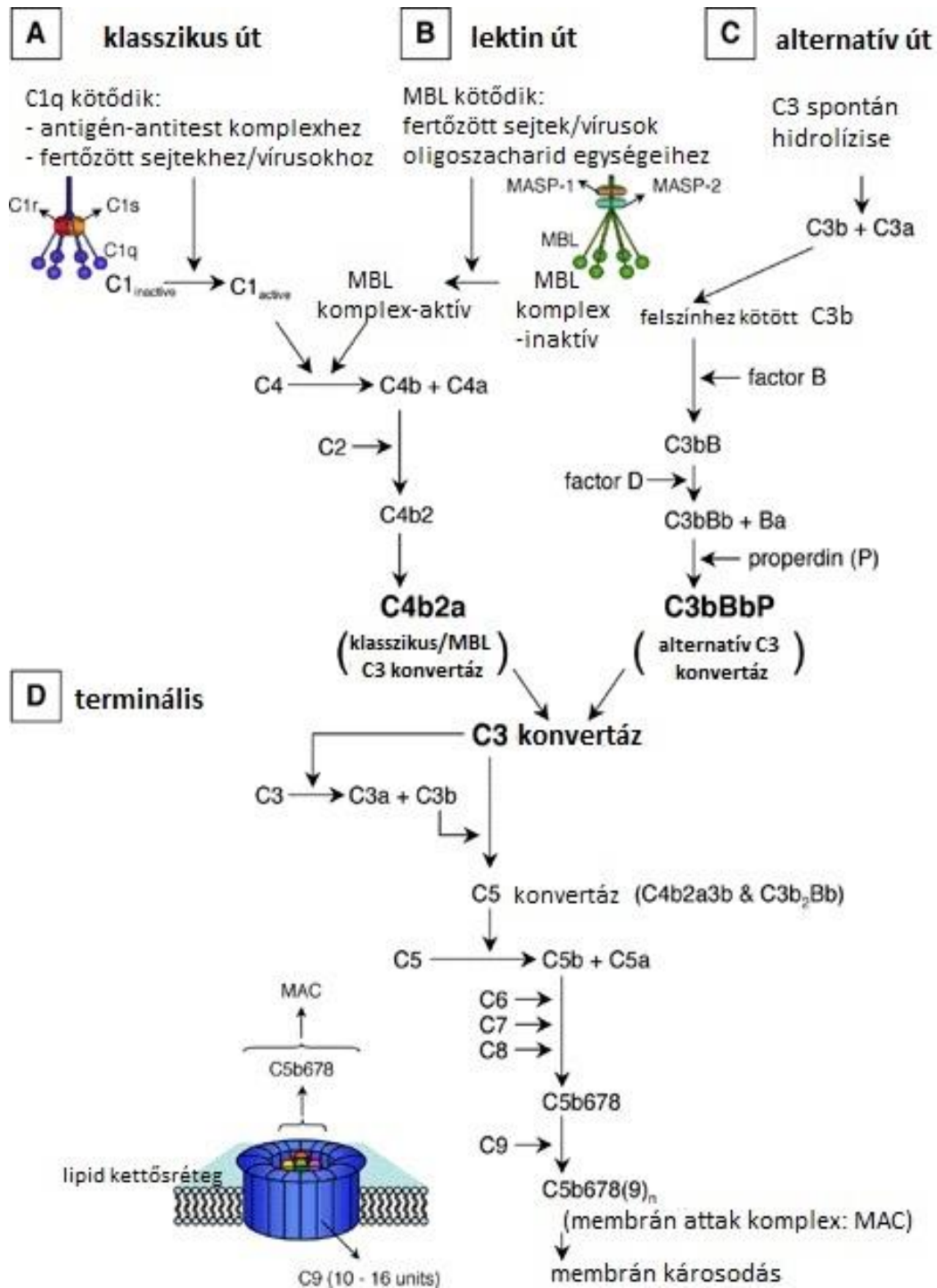
A C5b további komplement fehérjékkel komplexet képezve (C6, C7, C8, C9) létrehozza a terminális komplexet, azaz a C5b9-et, más néven a „Membrán Attak Komplex”-et (MAC, vagy TCC rövidítése is használatos) [24]. A komplex a célsejten transzmembrán csatornát képez, mely megbontja a lipid kettősréteg szerkezetét, így a sejt ozmotikus lízis következtében elpusztul [44] (2. ábra).

A komplement rendszer aktiválódása során tehát három fő biológiai hatás valósul meg:

- A kaszkádszerű aktiválás során képződő anafilatoxinok által (C3a, C4a és C5a) megtörténik a gyulladásos sejtek „toborzása”, az aktivált polimorfonukleáris leukociták direkt módon vesznek részt a szövetek destrukciójában.
- A képződött C3b opszonizálja a patogéneket a fagociták számára.
- MAC képződik, mely a létrejövő sejtlízisért felelős.

Az effektív sejtlízisért nagyszámú MAC szükséges. Számos sejt azonban, különösen az eukarióta sejtek, képesek védekezni a MAC lítikus hatásával szemben. A védekező válasz közben komplex szignál mechanizmus valósul meg, mely direkt módon serkenti a sejt számos biológiai funkcióját, így az endo- és exocitózist, a sejtciklus progresszióját, a transzkripció aktiválását és a fehérjék szintézisét. Ezen szignál fő feladata a sejt túlélésének és proliferációjának előmozdítása, különösen akut és krónikus gyulladás során [45]. Tehát, a C5b-9 mediálta sejtciklus aktiváció kiemelten fontos szerepet játszik a sejtek proliferációjában és az apoptózis elleni védelemben is [46].

Mindezek alapján fontos kiemelni, hogy egy igen kényes egyensúly áll fenn a komplement rendszer aktivációja és gátlása között. Amennyiben ez az egyensúly megbomlik, úgy a kontrollálatlan aktiváció az immun- és gyulladásos folyamatok diszregulációjához, így autoimmun kórképek kialakulásához, továbbá kiterjedt szövet- és szervkárosodáshoz vezethet.



**2. ábra: A komplement rendszer aktiválódásának fontosabb lépései.** A komplement rendszer aktivációja három vonalon valósulhat meg: a klasszikus- (A), az alternatív- (C) és a lektin úton (B) keresztül. Mindhárom út közös végterméke a terminális komplex (D).

**Rövidítések:** MBL: mannoz-kötő lektin; MAC: membrán attack komplex.



### 1.2.2. A komplement rendszer szabályozása

A szervezet saját sejtjeire és szöveteire kifejtett káros hatásainak kivédése céljából a komplement rendszer aktivációjának megfelelő gátlása kiemelkedően fontos. Érthető, hogy a kaszkád szigorú szabályozás alatt áll, melyben keringő és membránkötött fehérjék vesznek részt [47].

Központi fontosságú a C1 inhibitor (C1-INH), mely egy szerin-proteáz gátló. A klasszikus- és a lektin út (C1r, C1s, MASP-1 és MASP-2), valamint a koagulációs- és fibrinolitikus kaszkád proteázait irreverzibilisen megköti és így inaktíválja [20]. C1-INH deficiencia esetén hereditér angioödéma fejlődik ki, mely egy ritka, autoszómális dominánsan öröklődő kórkép. Ebben az esetben a C1-INH nem képes gátolni a XIIa-t és a kallikreint, így azok kontrollálatlanul aktiválódnak, túlzott bradikinin termeléshez és így extrém vaszkuláris permeabilitás növekedéshez vezetve [48]. Ismert továbbá, hogy a C1-INH egy akut fázis protein is, plazma koncentrációja emelkedik fertőzés esetén, különböző citokinek, köztük interferon- $\gamma$  hatására.

Az alternatív út kulcsfontosságú szabályozói a komplement faktor-H és fakor-I, melyek megakadályozzák a C3bBb véletlenszerű keletkezését. A H-faktor egyrészt disszociáltatja a C3bBb komplexet, másrészt kofaktora az I-faktornak, amely a C3b molekulát hasítja és inaktíválja [47]. Az aktivátorként viselkedő sejt felszíneken azonban a komplex védve van a H- és I-faktortól, ezáltal képes működni az alternatív útra jellemző önerősítő kör.

A szervezet saját sejtjeit membránkötött szabályozófehérjék, a CR1 (CD35), a DAF (CD55) és a membrán kofaktor protein (MCP/CD46) védik a C3bBb komplex kialakulásától. Újabb eredmények alapján az antikoaguláns hatású trombomodulin is komplement regulátorként viselkedik, mivel növeli a H-kofaktor aktivitását, valamint részt vesz a C3a és C5a fehérjék inaktíválásában [49].

A terminális komplex aktivációját mind a sejt felszínen, mind a vérkeringésben képesek az inhibitor molekulák gátolni. A vitronektin, vagy S-protein a C5b-7-hez kötődik és így meggátolja a C9 polimerizációját és így beépülését a komplexbe. A klusterin, vagy más néven SP-40 hasonlóan a C5b-7-hez kötődik és meggátolja a komplex beépülését a sejtmembránba, másrészt a C8 és C9 fehérjékhez kötődve meggátolja azok polimerizációját.

A CD-59 kulcsfontosságú a terminális út szabályozásában, ugyanis a C9 fehérje beépülését gátolja a C5b-8 komplexbe. A sejtmembránhoz egy glikozil-foszfatidil-inozitol molekulával van lehorgonyozva, melynek szomatikus mutációja a vörösvértetekben a paroximalis nokturnális hemoglobinuria kórkép kifejlődéséhez vezet [47].

A mannóz-kötő lektin/fikolin/kollektin asszociált protein (MAP-1) a lektin út inhibitora, mely a humán szérumban nemrég került felfedezésre [50]. *Skjoedt és munkatársai* eredményei alapján, MAP-1 volt kimutatható a miokardium területén a miociták rostszalacskaiban mindenhol, míg a vázizmok rostszalacskaik között csak egy sokkal szűkebb festési mintázatban. Ez a megfigyelés arra enged következtetni, hogy maga az izomrostok kontrakciója indukálja a MAP-1 képződését. Ellentétben a fentiekkel, nem volt kimutatható MAP-1 festődés az aorta falában, így valószínűnek látszik, hogy simaizom szövetben nem található meg ez az inhibitor izoforma. Mindezek alapján, a MAP-1 a komplement rendszer egy potens, szisztémás szabályozó regulátorának tekintendő *in vivo*. Ugyanakkor, feltételezhetően lokális szabályozó funkciója is van, melyet alátámaszt, hogy döntően a harántcsíktal izomzatban és a szívizomzatban található meg.

### 1.2.3. A komplement rendszer és az endotélium

Az endotélium egy dinamikus, heterogén és aktív szerv, mely metabolikus, szintetikus és immunológiai funkcióval is rendelkezik. Integritása és funkcionális aktivitása elengedhetetlen az ateroszklerotikus folyamatok megelőzéséhez.

Az endotélsejtek az egyik legfontosabb extrahepatikus forrása a komplement fehérjéknek. Elhelyezkedésükből adódóan ugyanis mind a keringő vérrel, mind az extravaszkuláris térrel kapcsolatban állnak. HUVEC sejt kultúrán történt vizsgálatok alapján bizonyított, hogy képesek C3, C5, C6, C7 és C8 fehérjék szintézisére [51].

A komplement rendszer aktivátor fehérjéi fiziológias állapotban, szigorúan szabályozott keretek között az endotélsejtekhez kötődve elősegítik azok gyulladáso folyamatokban, koagulációban és az értónus regulációjában való részvételüket [52], tehát fontos szabályozó funkcióval bírnak. A humán endotélsejtek felszínén több komplement receptort azonosítottak, köztük négy különböző C1q receptort [53].

Fontos kiemelni, hogy az intakt endotélium egy „tökéletes” biokompatibilis felület, tehát rajta komplement aktiváció nem jön létre. Károsodása, az endotélium integritásának megbomlása során azonban az endotélsejtek anafilatoxin receptorokat és komplement regulátor fehérjéket expresszálnak a felszínükön, melyek a komplement rendszert aktiválni képesek. *In vitro* eredmények alapján ekkor a C3a, C5a és C5b-9 komplement faktorok az endotélsejteken adhéziós molekulák és proinflammatorikus citokinek expresszióját okozzák, míg az SC5b-9 komplex az endotheliális sejtréteg fellazulását idézi elő [54]. Sublítikus mennyiségű SC5b-9 azonban képes olyan szignál transzdukciós utakat aktiválni, melyek a sejtciklus aktiválásához és így a sejtek túléléséhez vezetnek [45]. Ebből következik, hogy az egészséges homeosztázis fenntartásához az endotélsejteknek védelemre is szükségük van a komplement rendszerrel szemben, ezért számos komplement inhibitor (C1-INH, faktor I és faktor H) és regulátor fehérjét (vitronektin és klusterin) szintetizálnak [52].

Endotél diszfunkció kialakulása során megbomlik az egyensúly a protektív és a károsító ágensek között. Jellemzően csökken az endogén stimulusokra kialakuló vazodilatáció, proinflammatorikus és protrombotikus állapot jön létre [55], mely az ateroszklerózis kialakulásának alapja, gyakorlatilag első stádiuma.

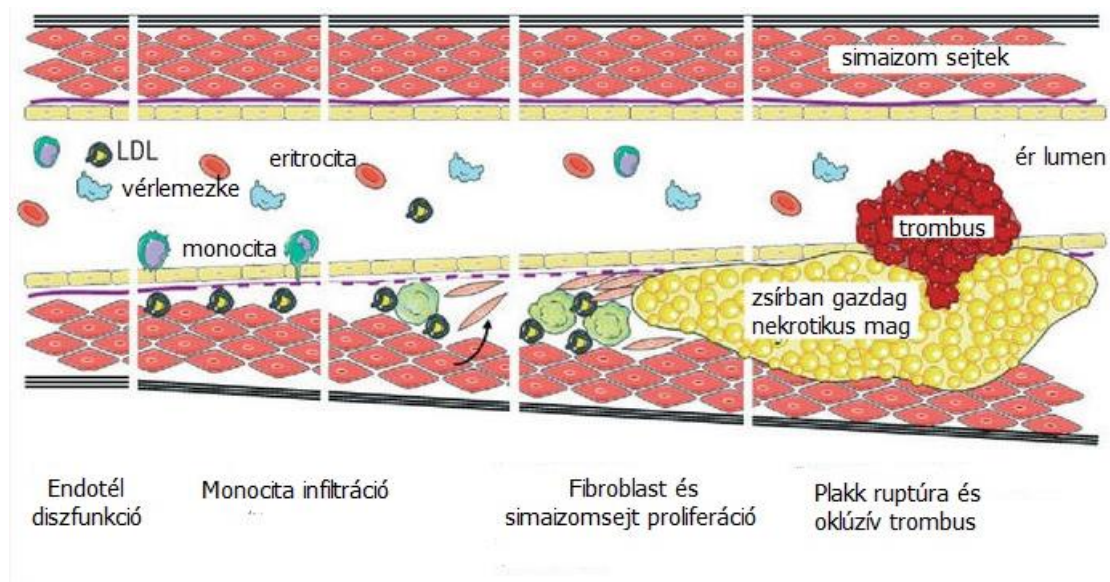
#### **1.2.4. A komplement rendszer szerepe az ateroszklerózis kialakulásában**

Az ateroszklerózis multifaktoriális megbetegedésnek tekinthető, mind a genetikai predispozíció, mind a környezeti hatások szerepet játszanak kialakulásában. Az ateroszklerózis patomechanizmusának magyarázatára az elmúlt évtizedekben több elmélet is született. Korábban a legfontosabbnak a *lipidelméletet* tartották, melynek lényege, hogy a magas koleszterinszint aterogén tulajdonságú és a koleszterintartalmú lipoproteinek (mint az LDL) a subendoteliális régióban képesek felhalmozódni [56]. Az elméletet sok kritika érte, legfőbb probléma az volt, hogy nem született pontos magyarázat arra vonatkozólag, hogyan képes a „zárt” endotéliumon az LDL átjutni.

A *lipidelmélethez* hasonlóan több magyarázat (pl.: *kötőszövetes elmélet*, *trombogén elmélet*) is született, de ezek közül egyik sem tudta multifaktoriálisan megközelíteni az ateroszklerózis kialakulásának problematikáját. Manapság a leginkább elfogadott elmélet a *sérülésre adott válaszreakció* („*response to injury*”), melyet 1999-ben

publikált *Russel Ross* [57]. Lényege, hogy bármely, előbb felsorolt klasszikus kardiovaszkuláris rizikótényező képes endotél sérülést és következményes endotél diszfunkciót előidézni, a folyamat progressziójáért pedig lassú, krónikus gyulladással járó folyamatok felelősek (3. ábra).

Ismert, hogy az ateroszklerózis progresszív állapot, mely jól körülhatárolt patológiai stádiumokkal jellemezhető. Ennek első, elkülöníthető állomása az endotél diszfunkció, mely ezt követően a zsíros csík – átmeneti lézió – fibrózus plakk – komplikált lézió stádiumokon keresztül vezet a vulnérabilis ateroszklerotikus plakk, és ennek ruptúrája során az oklúzív trombus kialakulásához [58] (3. ábra).



**3. ábra: Az ateroszklerózis stádiumai.**

Endotél diszfunkció során csökken a nitrogénmonoxid (NO) szintje, melynek hatására csökken az NO-dependens vazodilatáció. Ezen felül nő az endotél permeabilitása, fokozódik az intimába történő lipoprotein, illetve monocita beáramlás. Az oxidált, aterogén tulajdonsággal rendelkező lipidek a monocita – makrofág, illetve az endotélsejtek apoptózisát indukálják. A fiziológiás állapotban antitrombotikus hatású endotél protrombotikus és proaggregáns tulajdonságot vesz fel, a trombocitákból felszabaduló mediátorok a simaizom sejtek intimába történő vándorlását és proliferációját okozzák. Az intima vastagsága tovább növekszik a felszabaduló gyulladással járó mediátorok és citokinek hatására, tovább segítve a lipidek felhalmozódását, így az ateroszklerotikus plakk progresszióját. Az instabil plakkok esetében a vékony fibrózus sapka könnyen rupturálhat. A ruptúrát elősegíti az endotélsejtek fokozott apoptózisa, a gyulladással járó sejtek felszaporodása és a mátrix-metalloproteáz (MMP) aktivitás fokozódása [59,60].

Eredeti kép forrás: <http://healthyprotocols.com> (letöltve: 2016.02.15.)

1979-ben *Hollander és munkacsoportja* volt az első, aki kimutatta, hogy a C3 komplement fehérje jelen van az aterómában [61]. Továbbá leírásra került, hogy komplement aktiváció mutatható ki aneurizmák és az iszkémiás miokardium területén is [62]. Állatkísérletes modell során *Geertinger és Sorensen* elsőként bizonyították, hogy C6 komplement fehérje hiányos nyulak esetében, koleszterinben gazdag diéta ellenére, az ateroszklerózis mértéke csökkent, összehasonlítva C6 komplement fehérjével rendelkező nyulakkal [63].

A komplement rendszer szabályozása az ateroszklerotikus plakkban egyedi. A felső, proteoglikánokban gazdag intimalis rétegben ugyanis számos komplement fehérje található, melyek a klasszikus és az alternatív út termékei, azonban a közös út végterméke, a C5b-9 nem. Itt az immunkomplexek és a C-reaktív protein által történik a klasszikus út, míg enzimatikusan módosított LDL (E-LDL) által az alternatív út aktivációja. A közös végtermék, C5b-9 a properdinnel együtt a mélyebb mukoelasztikus rétegben fekszik [64]. Korai lézió esetén a komplement aktiváció célsejtje feltételezhetően a simaizomsejt, mely az ott jelenlévő makrofágokkal ellentétben nem expresszál komplement rendszer aktivációt gátló elemeket, mint „decay accelerating factor”- t (DAF) és CR1-t, valamint csak kis mennyiségben CD59-et. Az így megvalósuló simaizomsejt proliferációval párhuzamosan monocita kemoatraktáns protein-1 és IL-6 képződés is zajlik [65].

Ismert, hogy az ateroszklerotikus plakkban található C5b-9 depozíció mértéke korrelál a lézió súlyosságával. Hasonló összefüggést mutattak ki rupturált aneurizmák esetében is, itt az artériák falában szignifikánsan több C5b-9 depozitum volt kimutatható, mint a nem rupturált aneurizmák esetében [25].

#### **1.2.5. Komplement aktiváció kardiovaszkuláris kórképekben és vaszkuláris beavatkozások során**

Az utóbbi évtizedekben a komplement aktivációs termékek vizsgálata kardiovaszkuláris kórképekben intenzíven kutatott területté vált. Számos állatkísérletes modell született, melyek közül az első 1971-ben *Hill és Ward* nevéhez köthető. Patkány modellen először sikerült igazolni a C3 komplement fehérje jelenlétét, és így a komplement rendszer szerepét akut iszkémiás eseményt követően [66]. Később

majmokon sikerült bizonyítani, hogy az iszkémiás miokardiumban komplement depozitumok rakódnak le [67]. Számos további experimentális vizsgálat bizonyította kísérletes iszkémia/reperfúzió modellen a komplement aktiváció szerepét az iszkémiás esemény után létrejövő szövetkárosodásban, valamint a komplement fehérjék depozitumainak jelenlétét a károsodott területen.

A legtöbb humán vizsgálat a C3 komplement fehérjére irányult. Először *Muscari és munkatársai* igazolták humán kísérletek során, hogy súlyos ateroszklerózisban szenvedő egyéneknél magasabb a C3 és C4 komplement fehérjék értéke, összehasonlítva korban illesztett egészséges egyénekekkel [68]. Később kiderült, hogy egészségesekben a C3 és C4 szint korrelál a szérum koleszterin és triglicerid értékekkel [69]. Egy négy éves prospektív vizsgálatban a magas C3 komplement fehérje érték az akut miokardiális infarktus kockázatának független prediktora volt, függetlenül a tradicionális kardiovaszkuláris rizikótényezőktől [70]. Magyar munkacsoport is igazolta, hogy a magas C3 komplement fehérje érték ateroszklerózisban szenvedő, korábban CABG műtéten átesett nőknél független prediktora a jövőben bekövetkező major kardiovaszkuláris eseményeknek [71].

Egy 18 éves prospektív tanulmány során közel 6000 egészséges önkéntes férfi vizsgálata történt. A magas C3 komplement fehérje érték az életkortól független prediktornak bizonyult a jövőben bekövetkező koronária- és a kardiovaszkuláris események vonatkozásában [72]. Egy több, mint 1000 főt vizsgáló másik tanulmány során igazolódott, hogy a C3 komplement fehérje korrelál a BMI-vel, a szisztolés és diasztolés vérnyomásértékekkel, a triglicerid és vércukorszintekkel [73]. Fontos azonban kiemelni, hogy a korábban már miokardiális infarktuson átesett betegeknél, vagy azoknál, akik súlyos koronária betegségben szenvedtek, a C3 komplement fehérje értéke nem mutatott korrelációt az említett klasszikus kardiovaszkuláris rizikótényezőkkel, és szintje akkor is emelkedett maradt, miután azokat effektíven kezelték [74].

Több vizsgálat ismert, mely a C3 komplement fehérjén kívül az aktivációs kaszkád további elemeire irányul, a legtöbb akut koronária szindrómában. Ezek alapján, C3d, C4d és SC5b-9 komplement fehérje emelkedés mutatható ki akut koronária szindrómában a mellkasi panasz kezdetétől 24 órán belül [8]. Hasonlóan, akut miokardiális infarktusban emelkedett C3a, C5a és C5b-9 érték volt kimutatható a

keringésben és az ateroszklerotikus plakkban is [75]. Több vizsgálat is igazolta, hogy a magas SC5b-9 felvételi érték ST-elevációs akut koronária szindrómában független prediktornak tekinthető a halálozási rizikó és a késői szövődmények vonatkozásában [76]. Feltételezhetően a terminális komplex SC5b-9 aktiváció mértéke akut kardiovaszkuláris esemény, vagy súlyos kardiovaszkuláris megbetegedés során az állapot súlyosságával mutathat összefüggést [77].

Az okklúzív koronária trombusban C-reaktív fehérje mellett C3 és C1q, valamint C5 és C5a komplement aktivációs fehérje volt kimutatható. Ugyanebben a plazmában a trombus körül bekövetkező neutrofil leukocita akkumuláció a C5 komplement aktivációs fehérje által triggerelt kemotaxison keresztül valósult meg [78].

A fellelhető irodalmi adatok alapján igen kevés vizsgálat történt stabil angina pectorisban. Stabil angina és egészséges egyének között csupán non-szignifikáns különbséget találtak a C3d, C4d, Bb, és SC5b-9 komplement fehérjék vonatkozásában [8]. Egy másik vizsgálat szerint azonban szignifikánsan magasabb a C3 és C4 komplement fehérjék értéke ebben a betegcsoportban, összehasonlítva egészséges kontrollal [79]. *Speidel és munkatársai* a három komplement aktivációs út közös végtermékét, a C3a-t és a C5a-t vizsgálták stabil angina pectorisban elvégzett PCI során. Érdekes módon, szignifikáns emelkedést találtak a C5a komplement aktivációs fehérje esetében, míg a C3a értékében nem [80].

A lektin út kardiovaszkuláris kórképekben betöltött szerepéről igen kevés adat áll rendelkezésre. Magyar munkacsoport két független kohort vizsgálata alapján igazolta először, hogy az alacsony fikolin-3 szint korrelál a krónikus szívelégtelenség súlyosságával, a NYHA funkcionális stádiummal. Az alacsony fikolin-3 érték az 5 éves mortalitással is szignifikáns összefüggést mutatott ebben a betegcsoportban. Továbbá, az alacsony fikolin-3 értékhez magas C3a és alacsony C3 szint társult, alátámasztva ezzel a lektin úton keresztül megvalósuló komplement aktivációt [81].

*Vengen és munkatársai* a norvég HUNT-2 vizsgálat során igazolták, hogy fiatal és középkorú, relatív egészséges kaukázusi populációban, akiknél az MBL gén funkcionális polimorfizmusa (MBL2 gén) diszfunkcionális fehérje képződéshez és így MBL deficienciához vezet, a miokardiális infarktus kockázata közel kétszerese volt, függetlenül a tradicionális kardiovaszkuláris rizikófaktoroktól. Az eredmény

hangsúlyozza, hogy az MBL deficiencia az ateroszklerózis felgyorsulásához és fokozott vulnerábilis plakk képződéshez vezethet [82].

A közelmúltban, a MASP-ok vizsgálatáról publikált tanulmány szerint a MASP-1 értéke volt a legmagasabb subakut miokardiális infarktusbán, míg a legalacsonyabb akut sztrókbán. A MASP-2 értéke mindkét klinikai állapotban alacsony volt. Továbbá, a MASP-2 értéke szignifikánsan alacsonyabb volt akut miokardiális infarktusbán, összehasonlítva stabil angina pectorissal és egészséges kontrollcsoporttal [83].

A komplement rendszer és a különböző humán vaszkuláris beavatkozások tekintetében igen kevés irodalmi adat áll rendelkezésre. Magyar munkacsoport igazolta, hogy artéria karotisz endarterektómián (CEA) átesett betegek esetében a beavatkozást követően egy gyors C3a emelkedés mutatható ki, melyet egy gyengébb SC5b-9 emelkedés kísér. A C1rsC1-INH és C4d nem mutatott szignifikáns változást. Az eredmények alapján a szerzők az alternatív úton keresztül megvalósuló komplement aktivációt hangsúlyozták CEA során [84]. Egy másik érsebészeti vizsgálat esetében, hasi aorta műtét során szignifikánsan emelkedett C3a szintet írtak le, míg a kontrollcsoportként vizsgált perifériás érműtéten átesett betegeknél ez az emelkedés nem volt észlelhető [85]. Hasonlóan, mellkas-hasi aorta aneurizma műtét során szignifikánsan emelkedett C3bc és SC5b-9 szintet észleltek 8 órával az aorta lefogása után [86].



## 2. CÉLKITŰZÉSEK

A komplement rendszer szerepet játszik az ateroszklerózis kialakulásában: komplement aktiváció mutatható ki az ateroszklerotikus lézióban és a legtöbb humán adat a közös aktivációs termékről, a C3 komplement fehérjéről, továbbá akut iszkémiás történés során létrejövő komplement aktivációról szól. Stabil koronária betegség és invazív koronária beavatkozás patofiziológiáját érintően továbbra is igen kevés irodalmi adat áll rendelkezésre.

Vizsgálataink célkitűzése ezért a komplement rendszer aktivációjának elemzése iszkémiás szívbetegség stabil formájában. Három, egymástól elkülöníthető vizsgálatot végeztünk, melyek a következő pontokban foglalhatóak össze:

### **1. Komplement aktiváció vizsgálata és az aktivációs termékek prediktív értékének tisztázása iszkémiás szívbetegség stabil formájában.**

Vizsgálatunk első részében célunk volt az iszkémiás szívbetegség stabil formájában létrejövő komplement aktiváció elemzése, a komplement aktivációs út azonosítása. Ezt követően célunk volt a vizsgált komplement aktivációs termékek prediktív értékének felmérése. Hetvenhat stabil angina pectorisban szenvedő beteget vizsgáltunk, melyet egészséges önkéntesek értékeivel hasonlítottuk össze.

### **2. Komplement aktiváció vizsgálata invazív koronária beavatkozás során stabil angina pectoris esetén, összehasonlítva akut ST-elevációs miokardiális infarktussal.**

Vizsgálatunk második részében arra kerestük a választ, hogy stabil angina pectorisban elvégzett perkután koronária intervenció során létrejön-e komplement aktiváció, és amennyiben igen, melyik komplement aktivációs úton keresztül (n=24). Kontrollcsoportként olyan betegeket választottunk, akiknél csak diagnosztikus koronarográfia történt (n=52), stent implantáció nem. Ezt követően vizsgáltuk, hogy az elektív és az akut kondíció között elvégzett PCI esetén detektálható-e különbség a létrejövő komplement aktivációban. Ehhez 23 akut ST-elevációs miokardiális infarktus miatt primer PCI-ra kerülő beteget választottunk.

### **3. Komplement aktiváció vizsgálata makroszkóposan ép koszorúserekkel rendelkező stabil angina pectorisban.**

Típusos mellkasi fájdalom és pozitív iszkémia provokációs teszt ellenére a betegek egy részében az invazív koronária beavatkozás makroszkóposan ép koszorúsereket ábrázol.

Vizsgálatunk első pontjában ezen betegcsoportban szignifikánsan magasabb terminális komplex érték igazolódott, azonban ezt nem követte sem az alternatív-, sem a klasszikus komplement út aktivációja. Ezért célunk a komplement rendszer harmadik aktivációs útjának, a lektin út szerepének tisztázása volt negatív koronarogrammal rendelkező betegek esetében (n=18).

### 3. MÓDSZEREK

#### 3.1. Betegcsoportok

Vizsgálatainkba 76 stabil angina pektorisban szenvedő egyént vontunk be (SAP csoport), akik intézményünkben elektív invazív kardiológiai kivizsgálásra kerültek. Minden esetben non-invazív iszkémia provokációs teszt történt (EKG, kerékpár-, vagy futószalag ergometria, miokardium szcintigráfia), mely pozitív eredményt igazolt. A betegeket az invazív koronária bavatkozás eredménye alapján a következő csoportokba soroltuk:

- **SA-PCI csoport:** A koronarográfia szignifikáns (sztenózis mértéke >70 %) koszorúér sztenózist igazolt, együlésben sikeres PCI történt fémstent (BMS), vagy gyógyszerkibocsájtó stent (DES) implantációval, esetleg ballonos angioplasztikával (POBA) (n=24).
- **PC csoport:** A koronarográfia több-ág érintettséget igazolt, PCI elvégzésére nem volt lehetőség. Ezen betegcsoportba tartozó egyének a későbbiekben CABG műtéten estek át, vagy amennyiben ennek kockázata túl magasnak bizonyult, a továbbiakban konzervatív kezelésben részesültek (n=27). Vizsgálatunk első részében a koronarográfiával igazolt koszorúérbetegeket (SA-PCI és PC csoportok) összevontuk (CHD csoport, n=51).
- **NC csoport:** Típusos mellkasi fájdalom és pozitív iszkémia provokációs vizsgálat ellenére a koronarográfia makroszkóposan ép koszorúsereket igazolt. Az irodalomban „Kardiális X-szindróma”-ként ismert betegcsoport (n=25).

Kontrollcsoportok:

- **STEMI-PCI:** Akut (<12 órán belüli) ST-elevációval, típusos mellkasi fájdalommal járó miokardiális infarktuszban szenvedő betegek csoportja, akiknél akut koronarográfia és minden esetben a culprit lézió ellátása, sztentelése történt (n=23).
- **HC csoport:** 115 egészséges önkéntes, managementszűréseken résztvevő egyén.

Kizárási kritériumaink a következők voltak: kardiogén sokk állapota, súlyos veseelégtelenség ( $GFR < 30 \text{ ml/perc/1,73 m}^2$ ), ismert májelégtelenség, ismert hemetológiai-, autoimmun alapbetegség, terhesség, akut, vagy krónikus gyulladásoz folyamat, malignus megbetegedés.

Minden vizsgálati protokollt az Intézeti és a Regionális Etikai Bizottság engedélyezett (IKEB, TUKEB). Betegeink a bevonás előtt részletes írásos felvilágosítást követően, felmerülő kérdésekre kielégítő választ kapva, a vizsgálatban történő részvételhez írásos beleegyezésüket adták.

## **3.2. Laboratóriumi vizsgálati módszerek**

### **3.2.1. Mintavétel**

A komplement aktivációs termékek meghatározásához szükséges vérvétel először minden esetben szigorúan éhgyomorral, az invazív koronária beavatkozás előtt, majd azt követően 6 és 24 óra múlva történt.

Alkalmanként összesen 14 ml vénás vért vettünk le a véna kubitálisból egy darab K3-EDTA-val alvadásgátolt vérvételi csőbe (6 ml Vacuette EDTA-alvadásgátolt cső, Greiner Bio-One), továbbá egy darab natív vérvételi csőbe (8 ml Vacuette natív cső, Greiner Bio-One). Ezt követően 3000 rpm-en 10 percig tartó centrifugálást alkalmaztunk, majd az így kapott EDTA- plazmát és a szérumot eppendorf csövekbe osztottuk. Az így kapott mintákat 500 µl-es részletekre osztva, a megfelelő feldolgozásig azonnal -80 °C-os fagyasztóba helyeztük és tároltuk. Felmelegítésük szigorúan csak a feldolgozás előtt történt.

### **3.2.2. Komplement aktivációs termékek és a lektin út produktumainak meghatározása**

#### **3.2.2.1. A C1rC1sC1- INH meghatározása**

Mikrotitráló lemezt (Nunc Maxisorp F96) 1:500 hígítású, nyúlban termelt anti-humán C1-INH ellenanyaggal fedtünk, 16 órán át, 4 °C-on. A lemezt 1% BSA-t tartalmazó PBS-oldattal blokkoltuk, majd 1:200 hígítású EDTA-plazma mintákkal és standarddal (hőaggregált IgG-vel aktivált normal humán szérum) inkubáltuk 1 órán át. Detektáló ellenanyagként 1:500 hígítású, kecskében termelt anti-humán C1s (DiaSorin, US) ellenanyagot alkalmaztunk, majd másodlagos ellenanyagként 1:1000 hígítású, nyúlban termelt, peroxidázzal konjugált anti-kecske IgG ellenanyagot (Jackson Immunoresearch, UK). ABTS szubsztrátot (Sigma-Aldrich, Germany) használtunk, és a reakciót 0.2 M oxálsavval állítottuk le. Az optikai denzitás értékeket 405/492 nm-en olvastuk le. A minták C1rC1sC1-INH tartalmát egység/ml-ben fejeztük ki (1000 egység felel meg 1 ml hígítatlan, hőaggregált IgG-vel aktivált normál szérum C1rC1sC1-INH tartalmának).

#### **3.2.2.2. A C3bBbP meghatározása**

Mikrotitráló lemezt (Nunc Maxisorp F96) 1:1000 hígítású, kecskében termelt anti-humán properdin-faktor B ellenanyaggal (Incstar Corporation, USA) fedtünk, 16 órán át, 4 °C-on. A lemezt 1% BSA-t tartalmazó PBS-oldattal blokkoltuk, majd 1:10 hígítású EDTA-plazma mintákkal és standarddal (zimozánnal aktivált normál humán szérum) inkubáltuk 1 órán át. Detektáló ellenanyagként 1:3000 hígítású, biotinnal konjugált, nyúlban termelt anti-humán C3c (Dako, Dánia) ellenanyagot alkalmaztunk, majd másodlagos ellenanyagként 1:1000 hígítású, sztreptavidin-peroxidázt. OPD szubsztrátot (Dako, Dánia) használtunk, és a reakciót 0.5 M kénsavval állítottuk le. Az optikai denzitás értékeket 492/620 nm-en olvastuk le. A minták C3bBbP tartalmát egység/ml-ben fejeztük ki (1000 egység felel meg 1 ml hígítatlan, zimozánnal aktivált normál szérum C3bBbP tartalmának).

### 3.2.2.3. A SC5b-9 meghatározása

Mikrotitráló lemezt (Nunc Maxisorp F96) 1:500 hígítású, egérben termelt anti-humán C5b-9 IgG monoklonális ellenanyaggal (Dako, Dánia) fedtünk 16 órán át, 4 °C-on. A lemezt 1% BSA-t tartalmazó PBS-oldattal blokkoltuk, majd 1:3 hígítású EDTA plazma mintákkal és standarddal (zimozánnal aktivált normál humán szérum) inkubáltuk 1 órán át. Detektáló ellenanyagként 1:500 hígítású, nyúlban termelt anti-humán C5 ellenanyagot (Dako, Dánia) használtunk, majd másodlagos ellenanyagként 1:500 hígítású, peroxidázhoz kapcsolt, kecskében termelt anti-nyúl IgG, F(ab)<sub>2</sub> AffiniPure ellenanyagot (Jackson Immunoresearch, USA). OPD szubsztrátot (Dako, Dánia) használtunk, és a reakciót 0.5 M kénsavval állítottuk le. Az OD értékeket 492/620 nm-en határoztuk meg. Az SC5b-9 koncentrációkat egység/minta ml-ben fejeztük ki (1000 egység felelt meg 1 ml hígítatlan, zimozánnal aktivált normál humán szérum SC5b-9- tartalmának).

### 3.2.2.4. A fikolin-2 és fikolin-3 meghatározása

A fikolin-2, illetve fikolin-3 szintek meghatározása [87, 88] érdekében mikrotitráló lemezeket (Nunc, Roskilde, Denmark) 2,5 µg/ml fikolin-2-re specifikus (FCN216), illetve fikolin-3-ra specifikus (FCN334) monoklonális ellenanyagokkal fedtünk karbonát, illetve PBS (10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,47 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, pH 7,4) pufferben, 16 órán át, 4°C-on. Az 1:160, illetve 1:640 arányban hígított mintákat és a standardot (normál humán szérum keverék, amely ismert koncentrációban tartalmazott fikolin-2, vagy fikolin-3 fehérjéket) 3 órán át, 37 °C-on inkubáltuk. A PBS-T pufferrel (0,05% Tween-20-at tartalmazó PBS puffer) történő mosási lépéseket követően a lemezeket 2,5 µg/mL biotinilált anti-humán-fikolin-2 (FCN219-Biotin), illetve anti-humán-fikolin-3 (FCN334-Biotin) ellenanyagokkal inkubáltuk 16 órán át, 4°C-on. Másodlagos ellenanyagként 1:5000 hígítású sztreptavidin-torma-peroxidáz konjugátumot (Jackson ImmunoResearch Inc., West Grove, USA) alkalmaztunk 1 órán át, 37 °C-on. A mosási ciklusok után OPD szubsztrátot (Dako Denmark AS, Glostrup, Dánia) használtunk a színreakció előidézésére, majd 10-15 perc múlva kénsav oldattal állítottuk le az enzimatikus folyamatot, és 490 nm-en határoztuk meg az optikai denzitást.

### 3.2.2.5. A MAP-1 meghatározása

A MAP-1 szintek meghatározásához [50] a mikrotitráló lemezt (Nunc, Roskilde, Dánia) 6 µg/mL monoklonális anti-humán-MAP-1 ellenanyaggal (20C4) fedtük 16 órán át, 4°C-on. A hígító pufferben (PBS, 0,05% Tween-20, 0,5% BSA, 10 mM EDTA) hígított szérum mintákat és a kalibrátort (rekombináns MAP-1 fehérjével kiegészített MAP-1-depletált szérum) 2 órán át, szobahőmérsékleten inkubáltuk a lemezen. Detektáló ellenanyagként 3 µg/mL biotinilált ellenanyagot használtunk, amely specifikusan felismeri a MASP-1, MASP-3 és MAP-1 közös láncát (mAb 8B3). Ezt követően 1:5000 hígítású sztreptavidin-torma-peroxidáz konjugátumot (Jackson ImmunoResearch Inc. West Grove, USA) alkalmaztunk, 2 órán át, szobahőmérsékleten, majd OPD szubsztráttal (Dako Denmark AS, Glostrup, Dánia) idéztük elő a színreakciót, és 1 M kénsav oldattal állítottuk le. Az optikai denzitást 490 és 650 nm-en határoztuk meg.

### 3.2.2.6. A fikolin-3/MASP-2 komplex meghatározása

A fikolin-3/MASP-2 komplex mennyiségi meghatározása céljából a korábban kifejlesztett kvantitatív ELISA módszert alkalmaztuk [89]. Maxisorb ELISA lemezeket (Nunc, Roskilde, Dánia) 2 µg/mL patkányban termelt anti-humán-MASP-2 monoklonális ellenanyaggal (patkány 8B5 klón, IgG1 izotípus; Hycult Biotech, Uden, Hollandia) fedtünk PBS-pufferben (16 órán át, 4°C-on). A szérum mintákat és a negatív kontrollokat (MASP-2- illetve fikolin-3-hiányos egyén széruma) 0,05% Tween-20-at tartalmazó PBS-pufferben (PBS-T) hígítottuk 1:20 arányban, majd a hígított mintákat duplikátumokban vittük fel a lemezre, és 16 órán át, 4°C-on inkubáltuk. A standard hígítási sort normál humán szérum keverék kétszeres hígítási sorozatával (1:2.5 – 1:320) készítettük el, és minden lemezen alkalmaztuk. A lemezt négyszer mostuk PBS-T pufferrel, majd 0,5 µg/ml biotinilált anti-humán-fikolin-3 ellenanyaggal (FCN334-Bio) inkubáltuk 16 órán át, 4°C-on. Másnap 1:1500 hígítású sztreptavidin-torma-peroxidáz konjugátummal (GE Healthcare, Little Chalfont, Egyesült Királyság) inkubáltuk a lemezt (2 órán át, szobahőmérsékleten), majd a mosási lépéseket követően szubsztrátként TMB Sensitive Substrate Solution-t (Kem-En-Tec Diagnostics AS,

Taastrup, Dánia) alkalmaztunk. Az enzimátikus reakciót 1 M kénsav oldattal állítottuk le, és az optikai denzitást 450 nm-en határoztuk meg. A vizsgált minták fikolin-3/MASP-2 tartalmát arbitrális egységben fejeztük ki (AE/ml); 100 arbitrális egység felel meg 1 mL hígítatlan normál humán szérum keverék fikolin-3/MASP-2 komplex tartalmának.

### 3.2.2.7. A fikolin-3 által közvetített TCC-depozíció meghatározása

A *Hein és munkatársai* által leírt [90] fikolin-3 által közvetített TCC-depozíció mértékének meghatározása érdekében a mikrotitráló lemezt (Nunc, Roskilde, Dánia) 5 µg/mL acetilált BSA-val fedtük, PBS pufferben, 16 órán át, 4 °C-on. A fedést követően a lemezt barbitál-T pufferrel fedtük 1 órán át, 4 °C-on, majd háromszor mostuk barbitál-T pufferrel. A szérum mintákat 1:25 arányban hígítottuk barbitál-T pufferben, majd 45 percen át, 37 °C-on inkubáltuk a lemezen. A lemezt háromszor mostuk barbitál-T pufferrel, majd 1 µg/mL egérben termelt, monoklonális anti-humán-C5b-C9 (Dako Denmark AS, Glostrup, Dánia) ellenanyaggal inkubáltuk rázva, 2 órán át, szobahőmérsékleten. A mosási lépéseket követően a lemezt barbitál-T pufferben, 1:2000 arányban hígított, kecskében termelt anti-egér IgG ellenanyaggal (Jackson ImmunoResearch Inc., West Grove, USA) inkubáltuk rázva, egy órán át, szobahőmérsékleten, majd szubsztrátként TMB-t (Kem-En-Tec Diagnostics AS, Taastrup, Dánia) alkalmaztunk. Az optikai denzitást 450 nm-en határoztuk meg.

### 3.2.3. Statisztikai elemzés

Az elemzéseket Statistica 7.0 software-el (Stat Soft. Inc., Tulsa, USA), GraphPad Prism v4.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)) és SPSS v13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) software-el készültek. A statisztikai összehasonlítások kétoldali próbával,  $p < 0.05$  szignifikancia szinten történtek.

A demográfiai adatok átlag  $\pm$  standard deviáció (SD), illetve szám (n) és százalék (%) formájában vannak feltüntetve. A komplement aktivációs termékek és a lektin út produkumai medián (M), illetve interkvartilis terjedelemben (IQR) vannak feltüntetve. A betegcsoportok közötti különbségeket a Kruskal – Wallis ANOVA, illetve a Mann-



Whitney tesz segítségével határoztuk meg. Friedman ANOVA-t, illetve Wilcoxon próbát alkalmaztunk a dependens változók közti különbségek meghatározásához, melyeket Dunn post hoc test követett. A kategorikus változókat Fisher's exact teszttel hasonlítottuk össze. Az egyváltozós összefüggéseket többváltozós logisztikus regressziós modellel vizsgáltuk.

## **4. EREDMÉNYEK**

### **4.1. Komplement aktiváció vizsgálata és az aktivációs termékek prediktív értékének tisztázása iszkémiás szívbetegség stabil formájában**

#### **4.1.1. Demográfiai adatok**

SAP betegek demográfiai adatait elemezve, nem találtunk különbséget a nemek, az életkor és BMI vonatkozásában. Kiemelendő, hogy mindhárom csoport tagjai BMI besorolás szerint a „túlsúlyos” kategóriába tartoztak.

A betegek a klasszikus kardiovaszkuláris rizikófaktorokkal rendelkeztek, mint a hipertónia, diabétesz mellitusz, dohányzás és hiperlipidémia, ezek tekintetében sem találtunk szignifikáns különbséget az egyes csoportok között. Az anamnesztikus miokardiális infarktus és PCI szignifikánsan gyakrabban fordult elő SA-PCI és PC csoportokban ( $p < 0.0001$ , Fisher's exact teszt), összehasonlítva NC csoporttal. PC csoportban szignifikánsan több korábbi CABG műtét szerepelt, összehasonlítva NC csoporttal ( $p < 0.05$ , Fisher's exact teszt) (1. táblázat).

SAP betegek az iszkémiás szívbetegségnek megfelelő, aktuális ajánlások szerint alkalmazott farmakoterápiában részesültek. Felvételi gyógyszerek között nem találtunk szignifikáns különbséget az egyes betegcsoportok között (1. táblázat).

A koronarográfia és PCI eredményeit tekintve, szignifikánsan több kontrasztanyag alkalmazása történt SA-PCI csoportban, összehasonlítva NC és PC csoportokkal ( $p < 0.0001$ , Mann Whitney teszt). SA-PCI csoportban összesen 27 db sztent implantáció és 5 alkalommal ballonos tágítás történt (10 db DES/17 db BMS/5 db POBA). Az implantált stentek átlagos szélessége  $1.52 \pm 0.87$  cm, átlagos hossza  $24.07 \pm 6.83$  cm volt. Összhangban a nemzetközi ajánlásokkal, a betegek túlnyomó többségénél artéria radiális behatolásból történt az invazív koronária beavatkozás (1. táblázat).

**1. táblázat: SAP betegek demográfiai adatai.**

<b>Demográfiai adatok</b>	<b>SA-PCI</b> (n = 24)	<b>NC</b> (n = 25)	<b>PC</b> (n = 27)
Életkor, évek	59.7 ± 8.77	60.92 ± 9.7	60.66 ± 9.72
Férfi/ nő, n (%)	19 (79.2)/5(20.8)	13 (52)/12(48)	22 (81.5)/5(18.5)
Testtömegindex (BMI), kg/m <sup>2</sup>	28 ± 3.86	29.04 ± 5.4	29 ± 4.15
<b>Rizikó faktorok</b>			
Korábbi dohányzás, n (%)	20 (83.3)	11 (44)	17 (63)
Hipertónia, n (%)	21 (87.5)	18 (72)	23 (85.2)
Diabétesz mellitusz, n (%)	7 (29.1)	4 (16)	12 (44.4)
Hiperlipidémia, n (%)	14 (58.3)	11 (44)	13 (48.1)
Anamnesztikus AMI, n (%)	11 (45.8)	0 (0) <sup>a</sup>	17 (63)
Anamnesztikus PCI, n (%)	14 (58.3)	0 (0) <sup>a</sup>	15 (55.5)
Anamnesztikus CABG, n (%)	1 (4.1)	0 (0) <sup>c</sup>	6 (22.2)
<b>Gyógyszerek felvételkor</b>			
Aszpirin, n (%)	16 (66.6)	14 (56)	18 (66.6)
Clopidogrel, n (%)	15 (62.5)	7 (28)	17 (62.9)
ACE-gátló, n (%)	17 (70.8)	15 (60)	22 (81.4)
Béta- blokkoló, n (%)	19 (79.1)	19 (76)	25 (92.6)
Sztatin, n (%)	21 (87.5)	14 (56)	22 (81.4)
Nitrát, n (%)	5 (20.8)	5 (20)	7 (25.9)
<b>Invazív koronária beavatkozás</b>			
Átlagos koronária szűkület/beteg, n	1.29 ± 0.85		1.55 ± 1.08
Átlagos koronária okklúzió/beteg, n	0.83 ± 1.09		1.07 ± 1.06
DES/BMS/POBA, n	10/17/5		
Implantált sztentek átlagos száma/beteg, n	1.52 ± 0.87		
Implantált stentek átlagos hossza/beteg, mm	24.07 ± 6.83		
Átlagos kontrasztanyag vol., ml	222.8 ± 132.2	51.04 ± 18.85 <sup>a</sup>	99.96 ± 53.88 <sup>b</sup>
Behatolás: art. radiális/femorális, n	22 (91.6)/2 (8.4)	23 (92)/2 (8)	23 (85.2)/4(14.8)

Az értékek átlag ± SD, illetve szám (n) és százalék (%) formájában vannak feltüntetve.

**Rövidítések:** SAP: stabil angina pactoris; SD: standard deviáció; PCI: perkután koronária intervenció; NC: negatív koronarográfia; PC: pozitív koronarográfia; AMI: akut miokardiális infarktus; CABG: koronaro-aorto bypass graft; DES: drug eluted stent; BMS: bare metal stent; POBA: perkután ballonos

angioplasztika; vol: volumen; Fischer's exact teszt a kategórikus változókra, Mann-Whitney teszt a folyamatos változókra.

<sup>a</sup>p<0.0001; szignifikáns különbség összehasonlítva PC csoporttal és SA-PCI csoporttal.

<sup>b</sup>p<0.0001; szignifikáns különbség összehasonlítva SA-PCI csoporttal.

<sup>c</sup>p<0.05; szignifikáns különbség összehasonlítva PC csoporttal.

Elemzésink során a bizonyítottan koronária ateroszklerózissal rendelkezőket (CHD csoport: SA-PCI csoport + PC csoport) egészséges önkéntesekkel (HC csoport) is összehasonlítottuk. HC csoport tagjainak a vérvétel időpontjában nem volt ismert betegségük, gyógyszereszedés alatt nem álltak (2. táblázat). Szignifikáns különbséget találtunk az életkor (p<0.001, Mann Whitney teszt), a nem (p<0.001, Fisher's exact teszt), a BMI (p<0.001, Mann Whitney teszt), a triglicerid (p<0.01, Mann Whitney teszt), az összkoleszterin (p<0.05, Mann Whitney teszt) és a kreatinin tekintetében (p<0.01, Mann Whitney teszt) (2. táblázat).

## 2. táblázat: Igazoltan koronária ateroszklerózissal rendelkezők (CHD) és egészséges kontrollcsoport (HC) demográfiai adatainak összehasonlítása.

Demográfiai adatok	CHD (n=51)	HC (n=115)
Életkor, átlag ± S.D., évek	60.2 ± 9.2	39.4 ± 9.9***
Férfi/ Nő, n (%)	41 (80.4)/10 (19.6)	50 (43.4)/65 (56.6)***
BMI, átlag ± S.D., kg/m <sup>2</sup>	28.5 ± 4.0	24.1 ± 3.8***
Korábban dohányzott I/N, n (%)	10 (19.6)/41 (80.4)	21 (18.2)/94 (81.8)
Koleszterin, mmol/l	4.00 (3.30-5.30)	5.01 (4.50-5.67)*
Triglicerid, mmol/l	1.47 (1.07-1.72)	0.95 (1.66-1.26)**
Kreatinin, μmol/l	75 (66-92)	70 (62-79)*
GOT, U/l	21 (17-25)	20 (16-23)

Az értékek medián és IQR értékben, illetve szám (n) és százalék (%) formájában vannak feltüntetve.

**Rövidítések:** CHD: Igazoltan koronária ateroszklerózissal rendelkezők; BMI: testtömeg index; I/N: igen/nem; GOT: glutamát-oxálacetát-transzamináz.

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, Fischer's exact teszt a kategórikus változókra, Mann-Whitney teszt a folyamatos változókra.

#### 4.1.2. Komplement aktivációs termékek felvételi értékének elemzése

Vizsgálatunk első részében SAP betegek felvételi komplement aktivációs termékek plazmaszintjeit hasonlítottuk össze egészséges kontrollcsoporttal (HC). A plazma C1rC1sC1-INH koncentrációja (M (medián) és [IQR]; SAP: 13.31 AU/ml [9.18-18.0 AU/ml] vs. HC: 7.71 AU/ml [3.9-9.68 AU/ml];  $p < 0.0001$ ), csakúgy, mint az SC5b-9 (SAP: 2.43 AU/ml [1.78-4.7 AU/ml] vs. HC: 1.79 AU/ml [0.85-2.76 AU/ml];  $p < 0.0001$ ) szignifikánsan magasabb volt SAP betegekben, mint HC-ban.

A C3bBbP plazmaszintjében nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget (SAP: 6.27 AU/ml [4.06-9.37 AU/ml] vs. HC: 7.65 AU/ml [5.6-17.68 AU/ml],  $p = \text{NS}$ ).

Ezt követően a komplement aktivációs termékek felvételi értékeit SAP betegekben a koronarográfia lelete alapján csoportokra lebontva elemeztük, és ezeket hasonlítottuk össze az egészséges kontrollcsoporttal. Az adatokat részletesen a 3. táblázatban mutatjuk be. Látható, hogy a C1rC1sC1-INH szignifikánsan magasabb ( $p < 0.001$ ) mind SA-PCI, mind PC csoportban, az egészséges kontrollcsoporttal összehasonlítva. Ezzel szemben, nem találtunk szignifikáns különbséget NC csoport és az egészséges kontrollcsoport között. C3bBbP plazmaszintjét elemezve, nem találtunk szignifikáns különbséget az egyes csoportok között.

Az SC5b-9 az NC csoportban volt szignifikánsan magasabb ( $p < 0.001$ ), és – bár kisebb mértékben – a PC csoportban is ( $p = 0.032$ ), összehasonlítva HC-val (3. táblázat).

#### 3. táblázat: Komplement aktivációs termékek felvételi értékei.

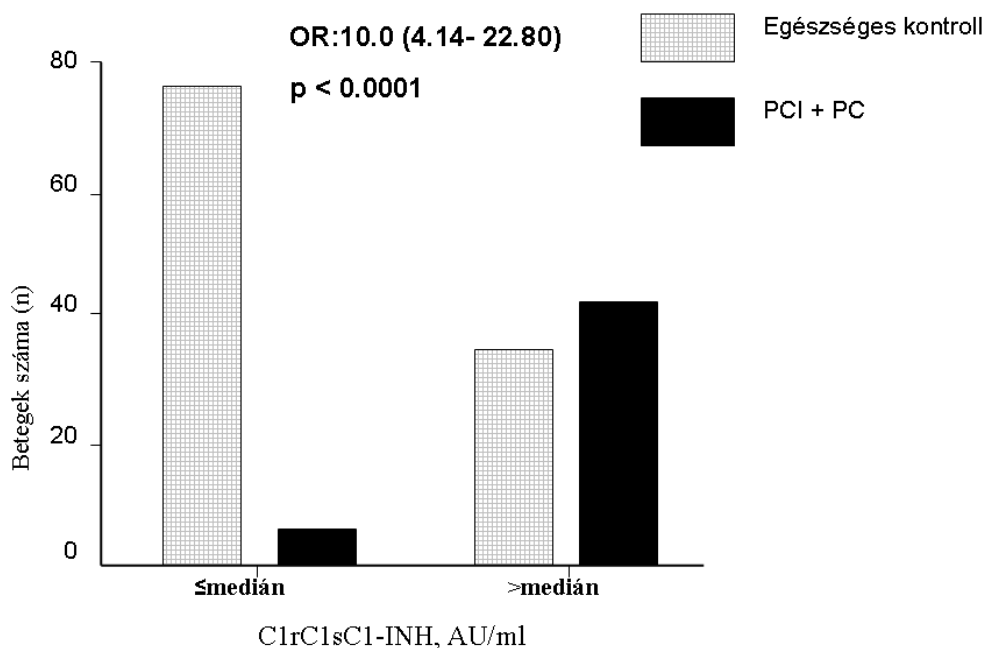
<b>Komplement aktivációs termékek</b>	<b>SA-PCI (n=24)</b>	<b>NC (n=25)</b>	<b>PC (n=27)</b>	<b>HC (n=113)</b>
	<b>14.88</b>	<b>10.08</b>	<b>14.63</b>	<b>7.71</b>
C1rC1sC1-INH, AU/ml	(10.28-19.12)	(6.69-14.09)	(11.50-17.02)	(3.90-9.68)
	+++		+++	
	<b>7.81</b>	<b>6.26</b>	<b>5.90</b>	<b>7.65</b>
C3bBbP, AU/ml	(4.19-16.55)	(4.36-7.85)	(3.17-8.57)	(5.60-17.68)
			+	
	<b>1.87</b>	<b>4.79</b>	<b>2.21</b>	<b>1.79</b>
SC5b-9, AU/ml	(1.04-2.51)	(2.98-6.63)	(1.80-2.91)	(0.85-2.76)
		+++	+	

Az értékek medián és IQR értékben vannak feltüntetve. **Rövidítések:** PCI: perkután koronária intervenció; NC: negatív koronarográfia; PC: pozitív koronarográfia.

+ $p < 0.05$ , ++ $p < 0.01$ , +++ $p < 0.001$  összehasonlítva az egészséges kontrollcsoporttal.

#### 4.1.3. C1rC1sC1-INH prediktív értékének meghatározása

A magas és az alacsony C1rC1sC1-INH plazmaszintet a  $>$  medián és  $\leq$  medián érték (9.1 AU/ml) szerint definiáltuk, az egész vizsgált betegcsoportra nézve. Szignifikánsan több, magas felvételi C1rC1sC1-INH mediánnal rendelkező beteg tartozott az igazoltan koronária ateroszklerózissal rendelkező csoportba (CHD), összehasonlítva egészséges kontrollcsoporttal (4. ábra). Az egészséges kontrollcsoport és a CHD csoport közötti szignifikáns különbséget mutató paraméterek (életkor, nem, BMI, triglicerid, koleszterin és kreatinin, lsd. 2. táblázat) hatásának kizárása érdekében többváltozós logisztikus regressziós modellt készítettünk. Ezt követően a C1rC1sC1-INH plazmaszintjében mutatott különbség továbbra is szignifikáns maradt. Az összes említett paraméter közül egyedül az életkor korrelált szignifikánsan a koronária ateroszklerózissal (4. táblázat).



**4. ábra:** Az igazoltan koronária ateroszklerózissal rendelkezőket és az egészséges kontrollcsoport egyéneit a magas és az alacsony C1rC1sC1-INH plazmaszint ( $>$ medián és  $\leq$ medián érték (9.1 AU/ml)) szerint csoportosítva

**Rövidítések:** OR: Odds ratio; PCI: perkután koronária intervenció; PC: pozitív koronarográfia.

**4. táblázat: Szignifikáns különbséget mutató paraméterek hatásának kizárása többváltozós logisztikus regressziós modell segítségével.**

Változó	p értéke	Odds ratio	Az OR 95% konfidencia intervallum alsó határa	Az OR 95% konfidencia intervallum felső határa
Életkor	<b>0.004</b>	1.271	1.079	1.496
Nem, (férfi/nő)	0.668	0.543	0.033	8.853
BMI, kg/m <sup>2</sup>	0.058	1.466	0.987	2.178
Koleszterin, mmol/l	0.570	0.927	0.715	1.203
Triglicerid, mmol/l	0.279	2.274	0.514	10.062
Kreatinin, μmol/l	0.923	1.005	0.902	1.120
<b>C1rC1sC1-INH &gt;medián/ ≤medián</b>	<b>0.026</b>	65.273	1.628	2616.284

**Rövidítések:** OR: Odds ratio; BMI: testtömeg index.

## 4.2. Komplement aktiváció vizsgálata invazív koronária beavatkozás során

### 4.2.1. Demográfiai adatok

Elemzésünk során a csak diagnosztikus koronarográfián átesett betegeket összevontuk (CORON csoport: PC és NC csoportok). Az akut körülmények között elvégzett, primer PCI során megfigyelhető komplement aktiváció vizsgálatának érdekében SA-PCI mellett STEMI-PCI csoportot elemeztük.

Nem találtunk különbséget a nemek és a BMI vonatkozásában. A betegek a klasszikus kardiovaszkuláris rizikófaktorokkal rendelkeztek, mint a hipertónia, diabetes mellitus, dohányzás és hiperlipidémia, ezek tekintetében sem találtunk szignifikáns különbséget az egyes csoportok között (5. táblázat).

A STEMI-PCI csoportba tartozó betegek szignifikánsan fiatalabbak voltak, összehasonlítva CORON csoporttal ( $54.78 \pm 10.7$  évek vs.  $60.32 \pm 9.45$  évek,  $p < 0.05$ , Mann Whitney teszt). Áttekintve az anamnesztikus kardiovaszkuláris eseményeket, szignifikánsan több betegnek volt korábban elszenvedett miokardiális infarktusa és PCI a SA-PCI és CORON csoportokban, összehasonlítva STEMI-PCI csoporttal ( $p < 0.05$ , Fisher's exact teszt) (5. táblázat).

SAP betegek az iszkémiás szívbetegségnek megfelelő, aktuális ajánlások szerint alkalmazott farmakoterápiában részesültek. Szignifikáns különbség mutatkozott gyógyszeresedés tekintetében, összehasonlítva STEMI-PCI csoporttal (5. táblázat). Eredményeink alapján elmondható, hogy STEMI miatt hospitalizált betegek fiatalabbak voltak, a legtöbb esetben korábban gyógyszert nem szedtek és az akut index esemény volt az első manifesztációja az aterotrombotikus koronária betegségnek.

STEMI-PCI csoportban szignifikánsan több koronária okklúzió igazolódott, összehasonlítva SA-PCI csoporttal ( $1.08 \pm 0.28$  vs.  $0.83 \pm 1.09$ ,  $p < 0.05$ , Mann Whitney teszt) és CORON csoporttal ( $1.08 \pm 0.28$  vs.  $0.55 \pm 0.93$ ,  $p < 0.0001$ ). Szignifikánsan több kontrasztanyag használata történt STEMI-PCI és SA-PCI csoportban ( $188.6 \pm 91.96$  ml és  $222.8 \pm 132.2$  ml) összehasonlítva CORON csoporttal ( $75.46 \pm 48.2$  ml,  $p < 0.0001$ , Mann Whitney teszt). Kiemelendő, hogy STEMI-PCI betegek kevesebb kontrasztanyagot kaptak az invazív beavatkozás közben, mint SA-PCI betegek ( $188.6 \pm 91.96$  ml vs.  $222.8 \pm 132.2$  ml,  $p = 0.39$ , Mann Whitney teszt).



**5. táblázat: SAP és STEMI betegek demográfiai adatai.**

<b>Demográfiai adatok</b>	<b>STEMI-PCI (n = 23)</b>	<b>SA-PCI (n = 24)</b>	<b>CORON (n = 52)</b>
Életkor, évek	54.78 ± 10.7 <sup>a</sup>	59.7 ± 8.77	60.32 ± 9.45
Férfi/ Nő, <i>n</i> (%)	17 (73.9)/6 (26.1)	19 (79.2)/5 (20.8)	35 (67.3)/17(32.7)
BMI, kg/m <sup>2</sup>	28.36 ± 7.01	28 ± 3.86	29.06 ± 4.76
<b>Rizikó faktorok, <i>n</i> (%)</b>			
Korábbi dohányzás, <i>n</i> (%)	17 (73.9)	20 (83.3)	28 (53.8)
Hipertónia, <i>n</i> (%)	12 (52.2)	21 (87.5)	41 (78.8)
Diabétesz mellitusz, <i>n</i> (%)	5 (21.7)	7 (29.1)	16 (30.7)
Hiperlipidémia, <i>n</i> (%)	11 (47.8)	14 (58.3)	30 (57.7)
Anamnesztikus AMI, <i>n</i> (%)	1 (4.4) <sup>a,b</sup>	11 (45.8)	19 (36.5)
Anamnesztikus PCI, <i>n</i> (%)	2 (8.7) <sup>b</sup>	14 (58.3)	16 (20.4)
Anamnesztikus CABG, <i>n</i> (%)	0 (0)	1 (4.1)	6 (11.5)
<b>Gyógyszerek felvételkor</b>			
Aszpirin, <i>n</i> (%)	2 (8.7) <sup>a,b</sup>	16 (66.6)	32 (61.5)
Clopidogrel, <i>n</i> (%)	2 (8.7) <sup>a,b</sup>	15 (62.5)	24 (46.1)
ACE-gátló, <i>n</i> (%)	4 (17.4) <sup>a,b</sup>	17 (70.8)	35 (67.3)
Béta- blokkoló, <i>n</i> (%)	10 (43.4)	19 (79.1)	43 (82.7)
Sztatin, <i>n</i> (%)	1 (4.4) <sup>a,b</sup>	21 (87.5)	36 (69.2)
Nitrát, <i>n</i> (%)	0 (0) <sup>a,b</sup>	5 (20.8)	12 (23)
<b>Invazív koronária beavatkozás</b>			
Átlagos koronária szűkület/beteg, <i>n</i>	1.13 ± 1.35	1.29 ± 0.85 <sup>c</sup>	0.8 ± 1.1
Átlagos koronária okkl./beteg, <i>n</i>	1.08 ± 0.28 <sup>a,b</sup>	0.83 ± 1.09	0.55 ± 0.93
DES/BMS/POBA, <i>n</i>	9/14/0	10/17/5	
Impl. stentek átlagos száma, <i>n</i>	1.65 ± 0.93	1.52 ± 0.87	
Impl. stentek átlagos hossza, mm	25.71 ± 38.0	24.07 ± 6.83	
Kontrasztanyag mennyiség, ml	188.6 ± 91.96 <sup>a</sup>	222.8 ± 132.2 <sup>c</sup>	75.46 ± 48.2
Behatolás: art. radiális/femorális	21 (91.3)/2 (8.7)	22 (91.6)/2 (8.4)	46 (88.5)/6 (11.5)

Az értékek átlag ± SD, illetve szám (n) és százalék (%) formájában vannak feltüntetve. **Rövidítések:** SD: standard deviáció; PCI: perkután koronária intervenció; CORON: diagnosztikus koronarográfia, AMI: akut miokardiális infarktus; CABG: koronaro-aorto bypass graft; DES: drug eluting stent; BMS: bare metal stent; POBA: perkután ballon angioplasztika; Fischer's exact teszt a kategórikus változókra, Mann-Whitney teszt a folyamatos változókra. <sup>a</sup>szignifikáns különbség (p<0.05) STEMI-PCI vs. CORON, <sup>b</sup>szignifikáns különbség STEMI-PCI vs. SA-PCI, <sup>c</sup>szignifikáns különbség SA-PCI vs. CORON.

A felvételi laboratóriumi eredményeket tekintve szignifikánsan emelkedett CK, CK-MB, LDH, GOT igazolódott STEMI-PCI csoportban, alátámasztva a miokardiális károsodás meglétét. Továbbá, szignifikánsan magasabb összkoleszterin és CRP érték volt megfigyelhető (6. táblázat).

**6. táblázat: SAP és STEMI betegek laboratóriumi eredményei.**

<b>Laboratóriumi eredmények felvételnél</b>	<b>STEMI-PCI (n = 23)</b>	<b>SA-PCI (n = 24)</b>	<b>CORON (n = 52)</b>
CK, U/l	1282.03 ± 358.4*	85.54 ± 11.57	117.36 ± 12.25
CK-MB, U/l	196.11 ± 107.19*	1.47 ± 0.2	2.27 ± 0.67
LDH, U/l	689.15 ± 108.23*	322.25 ± 15.62	314.12 ± 27.12
Összkoleszterin, mmol/l	5.17 ± 0.21*	4.26 ± 0.31	4.51 ± 0.21
LDL-koleszterin, mmol/l	3.2 ± 0.22*	2.51 ± 0.26	2.59 ± 0.18
HDL-koleszterin, mmol/l	1.35 ± 0.08*	0.97 ± 0.05	1.12 ± 0.06
Triglicerid, mmol/l	1.46 ± 0.31	1.36 ± 0.14	1.61 ± 0.12
GOT, U/l	110.08 ± 22.24*	22.9 ± 2.06	27.53 ± 3.29
Kreatinin, µmol/l	79.04 ± 3.75	77.69 ± 6.9	84.68 ± 5.69
CN, mmol/l	5.33 ± 0.33	5.69 ± 0.59	6.87 ± 0.66
CRP, mg/l	10.99 ± 2.9*	2.39 ± 0.58	5.93 ± 2.33
<b>Laboratóriumi eredmények 24 h</b>			
CK, U/l	1164.87 ± 153.19*	120.96 ± 18.7	94.21 ± 16.56
Kreatinin, µmol/l	80.39 ± 4.38	83.8 ± 5.43	91.66 ± 12.59

Az eredmények mean ± SEM-ben vannak feltüntetve.

**Rövidítések:** PCI: perkután koronária intervenció; CORON: diagnosztikus koronarográfia, STEMI: ST-elevációs akut miokardiális infarktus, CK: kreatinin-kináz, CK-MB: kreatinin-kináz MB izoforma, LDH: laktát dehidrogenáz, GOT: glutamát-oxálacetát-transzamináz, CN: karbamid, CRP: C-reaktív protein.

\* szignifikáns különbség (p<0.05) STEMI-PCI vs. SA-PCI és STEMI-PCI vs. CORON csoportok között.

#### 4.2.2. Komplement aktiváció vizsgálata elektív stabil angina pectorisban végzett invazív koronária beavatkozás során

A komplement aktivációs termékek (C1rC1sC1-INH, C3bBbP, SC5b-9) kinetikájának vizsgálata során három alkalommal történt vérvétel: az invazív beavatkozás előtt, valamint azt követően 6 és 24 óra múlva.

SA-PCI csoportban 6 órával a beavatkozást követően szignifikánsan emelkedett a C3bBbP plazma koncentrációja (medián (M): felvétel: 7.81 AU/ml vs. 6 óra: 16.09 AU/ml;  $p < 0.01$ ), majd szignifikáns csökkenés volt tapasztalható 24 órával a beavatkozást követően (6 óra: 16.09 AU/ml vs. 24 óra: 4.27 AU/ml;  $p < 0.001$ ). Hasonló kinetika figyelhető meg CORON csoportban (felvétel: 6.13 AU/ml vs. 6 óra: 12.08 AU/ml;  $p < 0.01$ , 6 óra: 12.08 AU/ml vs. 24 óra: 5.4 AU/ml;  $p < 0.001$ ). Az eredményeket az 7. táblázat és a 5. ábra foglalja össze.

Az összes SAP beteget elemezve, 3 csoportot képeztünk a 6 órás C3bBbP medián tercilis (T) értéke szerint (T1:  $< 9.29$  AU/ml, T2: 9.29-28.04 AU/ml, T3:  $> 28.04$  AU/ml). Eredményeink alapján elmondható, hogy a legmagasabb tercilis (T3) csoportba tartozó betegek esetében szignifikánsan emelkedett post-procedurális CK ( $135.71 \pm 62.46$  U/ml vs.  $68.0 \pm 87.67$  U/ml,  $p = 0.014$ ) és kreatinin érték ( $102.07 \pm 41.01$   $\mu\text{mol/l}$  vs.  $64.67 \pm 32.07$   $\mu\text{mol/l}$ ,  $p = 0.011$ ) igazolódott. Továbbá, ezen betegek szignifikánsan több kontrasztanyagot kaptak, mint a legalacsonyabb tercilisbe (T1) tartozók ( $157.36 \pm 126.46$  ml vs.  $115.54 \pm 120.89$  ml,  $p = 0.033$ ).

A 6 órás C3bBbP értéke szignifikáns korrelációt mutatott a post-procedurális CK és a kreatinin értékekkel ( $r = 0.41$ ,  $r = 0.4$ ,  $p < 0.05$ ), valamint az alkalmazott kontrasztanyag mennyiségével ( $r = 0.3$ ,  $p < 0.05$ ).

A C1rC1sC1-INH és az SC5b-9 plazmaszintje nem változott szignifikáns mértékben egyik vizsgálati időpontban sem (7. táblázat).

**7. táblázat: Komplement aktivációs termékek értékei invazív koronária beavatkozás során az egyes vizsgált betegcsoportokban.**

	felvétel	6 h	24 h
<b>SA-PCI</b>			
C3bBbP (AU/ml)	7.81 (4.19-16.55)	16.09** (8.6-95.13)	4.27*** (2.47-6.84)
C1rC1sC1-INH (AU/ml)	14.88 (10.28-19.12)	11.68 (9.31-15.3)	11.29 (5.52-14.69)
SC5b-9 (AU/ml)	1.87 <sup>a</sup> (1.04-2.51)	1.97 (0.78-2.62)	2.09 (1.03-3.81)
<b>STEMI-PCI</b>			
C3bBbP (AU/ml)	11.33 <sup>b</sup> (8.98-13.86)	8.86 (6.71-13.01)	7.0 <sup>c</sup> (5.22-10.06)
C1rC1sC1-INH (AU/ml)	11.0 (8.84-14.9)	9.73 (7.03-12.56)	9.22 (6.15-11.44)
SC5b-9 (AU/ml)	3.49 (2.0-5.44)	2.04 (1.26-5.54)	2.69 (1.5-5.66)
<b>CORON</b>			
C3bBbP (AU/ml)	6.13 (4.0-8.17)	12.08** (8.23-42.13)	5.4*** (3.04-10.93)
C1rC1sC1-INH (AU/ml)	12.65 (9.07-16.22)	9.97 (6.4-13.62)	12.41 (8.43-17.47)
SC5b-9 (AU/ml)	2.94 (2.08-5.05)	2.95 (2.01-5.2)	2.83 (2.2-4.8)

Az eredmények Medián, IQR értékekben vannak feltüntetve. Az összes változót Friedman-ANOVA-val elemeztük, melyet Dunn's post hoc teszt követett, a 6 órás érték és a felvételi érték, továbbá a 24 órás érték és a 6 órás érték összehasonlításával. \*p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001

<sup>a</sup> Felvételi SC5b-9 értéke SA-PCI csoportban összehasonlítva CORON és STEMI-PCI csoportokkal, p<0.05

<sup>b</sup> Felvételi C3bBbP értéke STEMI-PCI csoportban, összehasonlítva CORON és SA-PCI csoportokkal, p<0.05

<sup>c</sup> Felvételi vs. 24 h C3bBbP érték, p<0.05

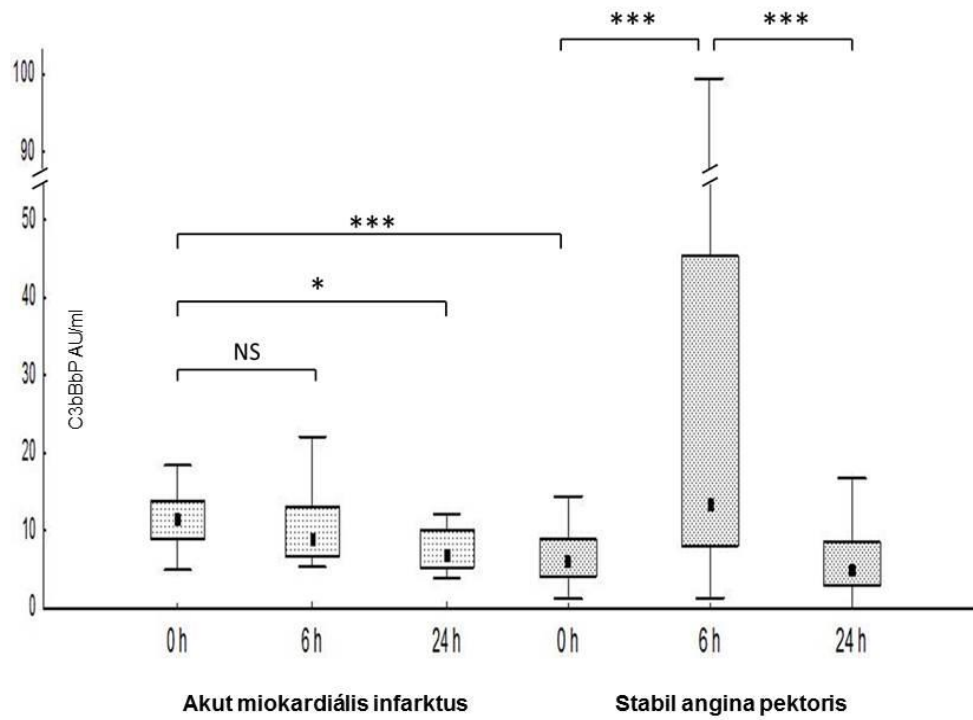
### 4.2.3. Komplement aktiváció vizsgálata akut ST-elevációs miokardiális infarktusban végzett invazív koronária beavatkozás során

STEMI-PCI csoportot elemezve, emelkedett C3bBbP igazolódott felvételnél, összehasonlítva SA-PCI (medián (M): 11.33 AU/ml vs. 7.81 AU/ml,  $p=0.11$ ) és CORON csoporttal (11.33 AU/ml vs. 6.13 AU/ml,  $p=0.0001$ ) (7. táblázat). Hasonlóan, a terminális komplex SC5b-9 plazmaszintje STEMI-PCI csoportban volt a legmagasabb (3.49 AU/ml), összehasonlítva SA-PCI (1.87 AU/ml,  $p=0.011$ ) és CORON csoportokkal (2.94 AU/ml,  $p=0.85$ ) (7. táblázat).

Elemezve a komplement aktivációt, nem találtunk szignifikáns emelkedést primer PCI-t követően. A C3bBbP szignifikáns csökkenést mutatott 24 órával a felvételt követően (felvétel: 11.33 AU/ml vs. 24 h: 7.0 AU/ml,  $p=0.025$ ) (7. táblázat és 5. ábra). SC5b-9 és C1rC1sC1-INH értékei nem mutattak szignifikáns változást a vizsgált periódus alatt STEMI-PCI csoportban (7. táblázat).

STEMI-PCI csoportban szignifikáns korreláció igazolódott a felvételi SC5b-9 értéke és a post-procedurális CK-MB és CRP között ( $r=0.52$  és  $r=0.47$ ,  $p<0.05$ ). Továbbá, a 6 órás SC5b-9 értéke szignifikáns korrelációt mutatott a post-procedurális troponin ( $r=0.58$ ,  $p<0.05$ ), CK-MB ( $r=0.66$ ,  $p<0.05$ ), CK ( $r=0.43$ ,  $p<0.05$ ), GOT ( $r=0.66$ ,  $p<0.05$ ) és LDH ( $r=0.64$ ,  $p<0.05$ ) értékekkel.

Nem találtunk szignifikáns összefüggést a C1rC1sC1-INH, C3bBbP és SC5b-9 értékeiben a behatolási kapu (artéria radiális vs. femorális), a predilatáció-postdilatáció alkalmazása és az implantált sztentek (BMS vs. DES) vonatkozásában.



**5. ábra: C3bBbP komplement aktivációs termék kinetikája akut miokardiális infarktusban és stabil angina pectorisban végzett koronarográfia és/vagy PCI során.**

Rövidítések: NS: non-szignifikáns

\* $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$

### **4.3. Komplement aktiváció vizsgálata makroszkóposan ép koszorúerekkel rendelkező stabil angina pektorisban**

#### **4.3.1. Demográfiai adatok**

Vizsgálatunk harmadik részében SAP betegcsoportból 18 koronarográfiával igazolt, makroszkóposan ép koszorúerekkel rendelkező egyént választottunk ki (NC csoport) és hasonlítottunk össze 37 igazoltan koszorúérbetegségben szenvedő beteggel (CHD csoport), továbbá 54 fő egészséges önkéntessel (HC csoport).

Mind NC, mind CHD betegcsoportban jelen voltak a klasszikus kardiovaszkuláris rizikótényezők, mint a hipertónia, diabétesz mellitusz, hiperlipidémia, elhízás és a dohányzás. Összehasonlítva a két betegcsoportot, szignifikáns különbséget detektáltunk a korábban elszenvedett miokardiális infarktus és PCI ( $p < 0.01$ , Fisher's exact teszt) vonatkozásában.

A betegek nagy része a nemzetközi ajánlásoknak megfelelő iszkémiás szívbetegség farmakoterápiájában részesült. Felvételi gyógyszereket tekintve, nem találtunk szignifikáns különbséget a betegcsoportok között. Demográfiai értékeket a 8. táblázat foglalja össze.

Laboratóriumi eredményeket tekintve, nem találtunk szignifikáns különbséget a vesefunkció, májfunkció tekintetében. Szignifikánsan magasabb HDL-koleszterin értéket detektáltunk az NC csoportban összehasonlítva CHD csoporttal (1.29 vs 0.98. mmol/l;  $p < 0.01$ , Mann-Whitney teszt).

Az egészséges kontrollcsoportot (HC) ebben az esetben 54 egészséges felnőtt alkotta (21 férfi, 33 nő, életkor (Medián): 33 év, 25<sup>th</sup>–75<sup>th</sup> percentilis: 21–58 év). HC csoportba tartozók ASA-t és sztatint primer prevenció indikációval szedtek. Az egészséges kontrollcsoporttal való összehasonlítás eredményét részletesen a 8. táblázatban mutatjuk be.

**8. táblázat: NC csoportba tartozó betegek demográfiai adatai, összehasonlítva CHD és HC csoportokkal.**

<b>Demográfiai adatok</b>	<b>CHD</b> (n = 37)	<b>NC</b> (n = 18)	<b>HC</b> (n = 54)
Életkor, évek	61.44 ± 8.69	61.08 ± 8.81	35.00 ± 11.25 <sup>a</sup>
Férfi/ nő, n (%)	32 (86.4)/5(13.6)	9 (50)/ 9 (50)	21 (39)/33 (61) <sup>c</sup>
Testtömegindex (BMI), kg/m <sup>2</sup>	29.06 ± 5.61	28.56 ± 4.73	23.69 ± 4.60 <sup>a</sup>
<b>Rizikó faktorok</b>			
Korábbi dohányzás, n (%)	28 (75.6)	8 (44.4)	6 (11.1) <sup>a</sup>
Hipertónia, n (%)	32 (86.4)	14 (77.7)	5 (9.26) <sup>a</sup>
Diabétesz mellitus, n (%)	17 (45.9)	3 (16.6)	0 (0) <sup>a</sup>
Hiperlipidémia, n (%)	17 (45.9)	7 (38.8)	2 (3.70) <sup>a</sup>
Anamnesztikus AMI, n (%)	18 (48.6) <sup>b</sup>	0 (0)	0 (0)
Anamnesztikus PCI, n (%)	19 (51.3) <sup>b</sup>	0 (0)	0 (0)
Anamnesztikus CABG, n (%)	6 (16.2) <sup>b</sup>	0 (0)	0 (0)
<b>Gyógyszerek felvételkor</b>			
Aszpirin, n (%)	26 (70.27)	9 (50)	2 (3.70) <sup>a</sup>
Clopidogrel, n (%)	25 (67.6)	5 (27.7)	0 (0) <sup>a</sup>
ACE-gátló, n (%)	31 (83.7)	11 (29.7)	1 (1.85) <sup>a</sup>
Béta- blokkoló, n (%)	34 (91.9)	15 (83.3)	1 (1.85) <sup>a</sup>
Sztatin, n (%)	32 (86.4)	9 (50)	0 (0) <sup>a</sup>
Nitrát, n (%)	9 (24.3)	5 (27.7)	0 (0) <sup>a</sup>
<b>Laboratóriumi paraméterek</b>			
CK, U/l	136.94 ± 58.63	101.4 ± 44.4	n.m.
LDH, U/l	335.23 ± 63.93	268.36 ± 139.5	n.m.
Koleszterin, mmol/l	4.15 ± 1.03	4.66 ± 1.31	4.84 ± 0.88 <sup>c</sup>
HDL-koleszterin, mmol/l	0.98 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.29 ± 0.41	1.55 ± 0.59
LDL-koleszterin, mmol/l	2.44 ± 0.9	2.53 ± 0.94	2.57 ± 0.96
Triglicerid, mmol/l	1.58 ± 0.71	1.56 ± 0.72	0.95 ± 1.01 <sup>c</sup>
GOT, U/l	25.75 ± 11.29	31.18 ± 19.45 <sup>d</sup>	20.00 ± 5.46
Kreatinin, µmol/l	74.87 ± 14.7	78.83 ± 21.23	67.00 ± 12.29 <sup>c</sup>
Karbamid, mmol/l	5.66 ± 1.46	6.66 ± 2.42	4.40 ± 1.02 <sup>a</sup>
CRP, mg/l	3.16 ± 2.23	2.49 ± 2.83	n.m.

Az értékek átlag ± SD, illetve szám (n) és százalék (%) formájában vannak feltüntetve.



**Rövidítések:** SD: standard deviáció; NC: negatív koronarográfia; CHD: igazolt koszorúérbeteg; HC: egészséges kontroll; AMI: akut miokardiális infarktus; CABG: koronaro-aorto bypass graft; n.m.: nem mérve. Fischer's exact teszt a kategórikus változókra, Mann-Whitney teszt a folyamatos változókra.

<sup>a</sup>szignifikáns különbség HC csoportban, összehasonlítva NC és CHD csoportokkal,  $p < 0.01$

<sup>b</sup>szignifikáns különbség CHD csoportban, összehasonlítva NC és HC csoportokkal,  $p < 0.05$

<sup>c</sup>szignifikáns különbség CHD vs. HC,  $p < 0.05$

<sup>d</sup>szignifikáns különbség NC vs. HC,  $p < 0.05$

#### 4.3.2. A lektin út produktumai

Tekintettel arra, hogy korábbi eredményeink alapján NC csoportban szignifikánsan magasabb terminális komplex SC5b-9 érték igazolódott (4.1.2. fejezet és 3. táblázat), a lektin út esetleges szerepének tisztázása céljából egy kisebb esetszámú alcsoportvizsgálatot végeztünk, ahol a lektin út produktumainak mérése történt.

A fikolin-2 szérumszintje szignifikánsan alacsonyabb volt az NC csoportban, összehasonlítva HC csoporttal (3.6  $\mu\text{g/ml}$  vs. 5.8  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p = 0.0053$ ) és CHD csoporttal (3.6  $\mu\text{g/ml}$  vs. 5.2  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p = 0.05$ ). Hasonlóan, a fikolin-3 szérumszintje szignifikánsan alacsonyabb volt NC csoportban, összehasonlítva HC csoporttal (17.8  $\mu\text{g/ml}$  vs. 24.1  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p = 0.035$ ) és CHD csoporttal (17.8  $\mu\text{g/ml}$  vs. 26.8  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p = 0.0162$ ) (9. táblázat).

Az FCN3-TCC depozíció mértéke (mely a fikolin-3 által történő aktiváció során létrejövő TCC, azaz SC5b-9 értéke in vitro detektálva) szignifikánsan alacsonyabb volt NC csoportban, összehasonlítva HC csoporttal (67.8% vs. 143.3%,  $p = 0.0081$ ) és CHD csoporttal (67.8% vs. 159.7%,  $p = 0.0366$ ). A fikolin-3/MASP-2 komplex szintén szignifikánsan alacsonyabb volt NC csoportban, összehasonlítva HC csoporttal (92.9 AU/ml vs. 144.9 AU/ml,  $p = 0.0061$ ). A fikolin-3/MASP-2 komplex szignifikánsan alacsonyabb volt CHD csoportban, összehasonlítva HC csoporttal (87.0 AU/ml vs. 144.9 AU/ml,  $p = 0.0113$ ). Nem találtunk szignifikáns különbséget a MAP-1 szérumszintjét elemezve, azonban kiemelendő, hogy tendenciájában a legalacsonyabb értéke NC csoportban volt (NC: 178.6 ng/ml, HC: 194.5 ng/ml, CHD: 212.4 ng/ml) (9. táblázat).

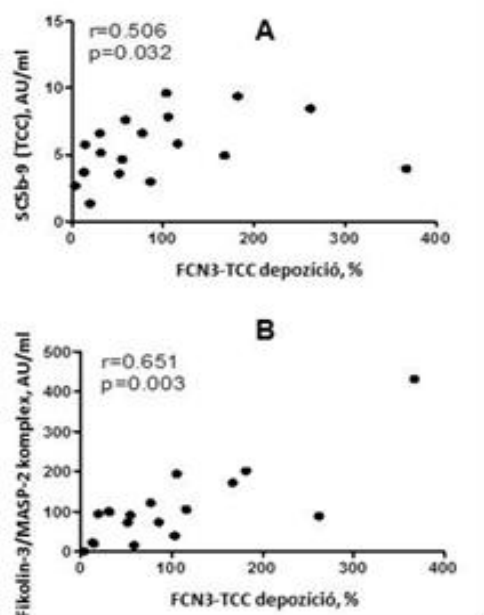
**9. táblázat: A lektív út produktumai az egyes vizsgálat csoportokban.**

	<b>CHD</b> (n=37)	<b>NC</b> (n=18)	<b>HC</b> (n=54)	<b>p értéke</b>
SC5b-9 (TCC), AU/ml	2.04 (1.54-2.46)	5.45 (3.71 – 7.62)	1.30 (0.93 – 2.29)	0.0001 <sup>a</sup> <0.0001 <sup>b</sup>
Fikolin-2, µg/ml	5.2 (3.5 – 7.7)	3.6 (3.2 – 4.7)	5.8 (4.2 – 8.0)	0.052 <sup>a</sup> 0.0053 <sup>b</sup>
Fikolin-3, µg/ml	26.8 (18.3 – 37.1)	17.8 (12.9 – 25.3)	24.1 (18.2 – 30.1)	0.0162 <sup>a</sup> 0.0351 <sup>b</sup>
MAP-1, ng/ml	212.4 (169.8 – 237.6)	178.6 (123.4 – 253.6)	194.5 (149.6 – 279.5)	NS
Fikolin-3/MASP-2 komplex, AU/ml	87.0 (54.9 – 188.6)	92.9 (39.4 – 121.7)	144.9 (89.8 – 336.2)	0.506 <sup>a</sup> 0.0061 <sup>b</sup>
Fikolin-3 mediálta TCC-depozíció, %	159.7 (72.7 – 203.0)	67.8 (27.8 – 129.0)	143.3 (91.9 – 195.3)	0.0366 <sup>a</sup> 0.0081 <sup>b</sup>

Az értékek Medián, IQR formában vannak feltüntetve. **a:** CHD vs. NC, **b:** NC vs. HC.

**Rövidítések:** NC: negatív koronarográfia; CHD: igazolt koszorúérbeteg; HC: egészséges kontroll; NS: non-szignifikáns.

Elemzéseink során, NC csoportban szignifikáns korreláció igazolódott az SC5b-9 (TCC) és az FCN3-TCC között ( $r=0.5067$ ,  $p=0.032$ ) (6. ábra/A). Hasonlóan, a fikolin-3/MASP-2 komplex és az FCN3-TCC depozíció szignifikáns korrelációt mutatott ( $r=0.651$ ,  $p=0.003$ ) (6. ábra/B).

**6. ábra: Korreláció a lektin út produktumai között NC csoportban.**

**A:** Korreláció TCC és FCN3-TCC depozíció között.

**B:** Korreláció Fikolin-3/MASP-2 és FCN3-TCC depozíció között.

### 4.3.3. A lektin út produktumainak elemzése a kardiovaszkuláris rizikótényezők és a gyógyszeresedés vonatkozásában

A teljes vizsgálati betegcsoportot elemezve, szignifikánsan magasabb SC5b-9 (TCC) érték igazolódott nemdohányzó betegek esetében, összehasonlítva dohányzó társaikkal (5.04 AU/ml vs. 2.05 AU/ml,  $p=0.0002$ ).

A folyamatosan változó paramétereket elemezve (életkor, BMI, vese- és májfunkciós paraméterek, CRP érték) nem találtunk szignifikáns összefüggést a mért paraméterek között.

A hipertónia és diabétesz mellitusz vonatkozásában nem találtunk különbséget a mért paraméterek között. Érdekes módon, a hiperlipidémia vonatkozásában szignifikáns különbség mutatkozott a lektin út produktumai között. Fikolin-2, fikolin-3, fikolin-3/MASP-2 komplex és az FCN3-TCC depozíció szignifikánsan magasabb volt hiperlipidémiás CHD csoportban (10. táblázat). Hasonló összefüggés az NC csoportban nem volt megfigyelhető (10. táblázat).

Tovább elemezve a fenti különbséget, a lektin út produktumai, a fikolin-2 ( $r=0.53$ ,  $p<0.05$ ), fikolin-3 ( $r=0.52$ ,  $p<0.05$ ), fikolin-3/MASP-2 komplex ( $r=0.43$ ,  $p<0.05$ ), az FCN3-TCC depozíció ( $r=0.42$ ,  $p<0.05$ ) és az inhibitor MAP-1 ( $r=0.45$ ,  $p<0.05$ ) szignifikáns korrelációt mutattak a triglicerid értékkel CHD csoportban. Hasonló összefüggés a koleszterin szint vonatkozásában nem igazolódott, továbbá NC csoportban az összefüggés nem volt megfigyelhető.

Az alkalmazott acetilszalicilsav, ACE-gátló, béta-blokkoló és sztatin kezelés függvényében nem találtunk különbséget az egyes paraméterek között. NC csoportban krónikus clopidogrel szedők esetében szignifikánsan emelkedett fikolin-3/MASP-2 komplex (121.67 AU/ml vs. 73.5 AU/ml,  $p=0.015$ ) és fikolin-3 (30.4  $\mu\text{g/ml}$  vs. 16.6  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p=0.006$ ) érték igazolódott.

**10. táblázat: A lektin út produktumai a hiperlipidaemia vonatkozásában.**

	CHD	NC
	HL +/ HL -	HL +/ HL -
SC5b-9 (TCC) AU/ml	2.05/ 2.03	5.8/ 5.1
Fikolin-3 med. TCC-depozíció, %	170.5/ 81.6 ( <b>0.003</b> )	77.3/ 51.6
Fikolin-3/MASP-2 komplex, AU/ml	132.6/ 72.02 ( <b>0.013</b> )	94.4/ 88.0
Fikolin-2 µg/ml	6.9/ 4.6 ( <b>0.047</b> )	3.5/ 3.6
Fikolin-3 µg/ml	34.3/ 18.4 ( <b>0.0001</b> )	19.0/ 16.7
MAP-1 ng/ml	227.9/ 207.7	185.0/ 171.0

Az értékek mediánban vannak feltüntetve. A zárójelben p értékei.

**Rövidítések:** HL: hiperlipidémia, CHD: igazolt koszorúérbetegek, NC: negatív koronarográfia.

## 5. MEGBESZÉLÉS

### 5.1. Komplement aktiváció vizsgálata és az aktivációs termékek prediktív értékének tisztázása iszkémiás szívbetegség stabil formájában

Irodalmi adatok alapján ismert, hogy az ateroszklerózis multifaktoriális megbetegedésnek tekintendő, patofiziológiájában a krónikus gyulladós folyamatoknak kiemelkedő szerepe van [1, 60, 57, 91]. Számos korábbi vizsgálat igazolta a komplement aktiváció jelenlétét az ateroszklerotikus lézióban és az iszkémiás miokardiumban, azonban ezek az eredmények döntően állatkísérletes modellekben születtek [20, 67, 92, 93, 94].

Vizsgálatunk első részében leírtuk, hogy koronarográfiával igazolt ateroszklerotikus koszorúérbetegek esetében szignifikánsan magasabb C1rC1sC1-INH komplement aktivációs komplex mutatható ki. Eredményeink alapján, ezen betegcsoportban folyamatos komplement aktiváció feltételezhető, mely a klasszikus úton keresztül valósul meg.

Elvégezve a többváltozós logisztikus regressziós analízist, a magas felvételi klasszikus út komplement aktivációs komplex (C1rC1sC1-INH) független markernek bizonyult koronária ateroszklerózis szempontjából. Eredményünknek fontos klinikai haszna lehet, amennyiben a C1rC1sC1-INH komplement aktivációs komplex laboratóriumi meghatározására kerülne stabil angina pectoris esetén. Segíthetné a korai rizikó stratifikálást, az alacsony/magas kockázati csoport elkülönítését még az invazív kardiológiai beavatkozás előtt. Továbbá, az iszkémiás szívbetegség korai gyógyszeres farmakoterápiájának bevezetésében is hasznos támpont lehetne.

A komplement rendszer aktivációja ateroszklerotikus szívbetegség során az utóbbi évtizedben intenzíven kutatott területté vált. Ismert, hogy az ateroszklerózis kialakulásában és progressziójában mind a veleszületett-, mind a szerzett immunválasz elemei részt vesznek. Számos komplement aktivációs [95] és regulátor fehérje, továbbá komplement receptor [96] detektálható az ateroszklerotikus plakk területén.

Vizsgálatunk során az iszkémiás szívbetegség stabil formájában elemeztük a létrejövő komplement aktivációt. Kiemelendő, hogy a legtöbb korábbi tanulmány főleg miokardiális infarktus során létrejövő komplement aktivációval foglalkozott, csupán

kevés irodalmi adat áll rendelkezésre stabil angina pectoris esetén. *Yasuda és munkatársai* [8] a C3d, C4d, Bb és SC5b-9 komplement fehérjék értékeit vizsgálták akut miokardiális infarktus, instabil angina pectoris, stabil angina pectoris során, valamint egészséges egyéneknél. Stabil angina pectoris és egészséges egyének között csupán non-szignifikáns különbséget találtak az összes mért paraméter vonatkozásában. C4d, Bb és SC5b-9 komplement fehérjék szintje miokardiális infarktus esetén szignifikáns emelkedést mutatott. Továbbá, az SC5b-9 értéke korrelált a csúcs kreatin-foszfokináz értékkel, és inverz módon korrelált az ejekciós frakcióval.

*Itumur és munkatársai* 82 akut koronária szindrómában szenvedő beteg mellett 35 stabil angina pectoris és 35 egészséges önkéntes esetében vizsgálta a C3 és C4 komplement fehérjéket. Stabil angina pectoris esetén szignifikánsan magasabb C3 és C4 komplement fehérje szintet detektáltak, összehasonlítva egészséges kontrollcsoporttal. Eredményeik alapján hangsúlyozzák, hogy mivel a C3 emelkedéssel párhuzamosan C4 emelkedés is detektálható, a komplement aktiváció feltételezhetően a klasszikus úton keresztül valósul meg [79]. Eredményeik összhangban vannak egy régebben publikált vizsgálattal, melyben *Muscari és munkatársai* IgG, IgA, IgM antitesteket és C3, C4 komplement fehérjéket vizsgáltak 23, bizonyítottan ateroszklerózisban szenvedő (angiográfiával vizsgálva, legalább 3 db > 70 %-os sztenózis a nyak és a végtagok területén) egyén esetében. A kontrollcsoportot 20 fő alkotta, akiknél angiográfiával nem volt kimutatható szignifikáns sztenózis. Eredményeik szerint a C3, C4 komplement fehérje és az IgA szignifikánsan magasabb volt ateroszklerózisban szenvedő egyéneknél. Többszörös logisztikus regressziós analízist követően a C4 és az IgA maradt az ateroszklerózis független prediktora [68].

A felsoroltak alapján elmondható, hogy kevés adat áll rendelkezésre stabil angina pectoris esetén. Az áttekintett irodalom alapján elmondható, hogy egészséges kontrollcsoporttal összehasonlítva stabil koronária betegeket, komplement aktiváció mutatható ki, mely a legtöbb esetben az emelkedett C3, SC5b-9 komplement fehérje igazol. Több eredmény szerint – a paralell módon emelkedő C4 komplement fehérje alapján - elsősorban a klasszikus úton keresztül megvalósuló komplement aktiváció feltételezhető [68, 79]. Ezen eredmények jelen vizsgálatunkkal összhangban vannak, az általunk vizsgált stabil angina betegcsoportban szignifikánsan emelkedett C1rC1sC1-

INH komplement aktivációs komplex igazolódott, mely a klasszikus úton keresztül megvalósuló komplement aktivációt jelzi.

Fontos azonban kiemelni, hogy a C4 komplement fehérje aktiváció újabb eredmények alapján a lektin úton keresztül is létrejöhet. Ismert, hogy a MASP-2 (szerin proteáz, mely a lektin út legfőbb effektora) egyértelműen részt vesz a C4 és C2 komplement fehérjék hasításában és így a C4b2a komplex képzésében, mely a klasszikus út C3 konvertáza [97].

Irodalmi adatok alapján több komplement fehérje prediktív értéke tisztázott. Az első vizsgálat, mely a komplement aktivációs fehérjék ateroszklerotikus érbetegek rizikó stratifikálásában betöltött esetleges szerepét elemezte, *Muscari és munkatársai* nevéhez köthető. Igazolták, hogy ateroszklerózisban szenvedőknél magasabb a C3 és a C4 szint, összehasonlítva korban illesztett egészséges egyénnel [68]. Később leírásra került, hogy egészségesekben a C3 és C4 szint korrelál a szérum koleszterin és triglicerid szinttel [69]. Egy négy éves utánkövetéses vizsgálat során a magas C3 komplement fehérje szint független prediktornak bizonyult a jövőben bekövetkező akut miokardiális infarktus szempontjából [70]. Magyar munkacsoport is igazolta, hogy a magas C3 komplement fehérje érték ateroszklerózisban szenvedő nőknél független prediktor a jövőben bekövetkező vaszkuláris események szempontjából [71]. Egy nagy betegszámú, 18 éves utánkövetéses vizsgálat során igazolódott, hogy a magas C3 komplement fehérje érték az életkortól független prediktornak bizonyult a jövőben bekövetkező koronária- és kardiovaszkuláris események szempontjából. Limitáló tényező, hogy a klasszikus kardiovaszkuláris rizikótényezőktől nem volt független az eredmény [72]. *Ajjan és munkacsoportja* igazolta, hogy a C3 komplement fehérje független összefüggést mutat a koronarográfiával bizonyított ateroszklerózissal. Továbbá, a C3 komplement fehérje jobb prediktor tényezőnek bizonyult, mint a C-reaktív protein [98]. Egy másik vizsgálat eredményei alapján, a C3/C4 hányados akut koronária szindróma után független prediktornak tekinthető egy jövőben bekövetkező új vaszkuláris esemény szempontjából [99]. Egy nemrég publikált vizsgálat szerint kardiovaszkuláris eseményt követő sikeres újraélesztés után, terápiás hipotermia megkezdését követő 24 óra múlva detektált C3a/C3 független prediktora a 30 napos mortalitásnak [100].

Látható, hogy a legtöbb vizsgálat a három út közös közti termékével, a C3 komplement fehérjével kapcsolatos. Eredményeink jól beilleszthetőek a korábbi megfigyelésekbe, melyek magasabb C3 szintet írnak le iszkémiás szívbetegségben, hiszen a komplement rendszerre jellemző kaszkádszerű aktiváció miatt szükségszerű valamelyik komplement aktivációs út aktiválódása.

A C3 komplement fehérjén kívül igen kevés adat áll rendelkezésre a komplement rendszer többi komponensére vonatkozólag. Leírásra került, hogy a magas C5a érték szimptomás perifériás érbetegségben prediktora a jövőben bekövetkező nem-kívánatos kardiovaszkuláris eseményeknek [101].

Érdekes módon, a terminális komplement komplex SC5b-9 értéke szignifikánsan emelkedett volt azon stabil koronária betegek körében, akiknél típusos mellkasi fájdalom és pozitív iszkémia provokáció ellenére a koronarográfia makroszkóposan ép koszorúsereket ábrázolt. Tekintettel arra, hogy ezt az emelkedést sem a klasszikus úton, sem az alternatív úton bekövetkező aktivációt jelző komplement aktivációs komplex emelkedés nem követte, feltételeztük, hogy az lektin úton keresztül valósulhat meg. Vizsgálataink harmadik részében részletesen ismertettük eredményeinket (4.3.2. fejezet).

Eredményeinket összefoglalva elmondható, hogy komplement aktiváció mutatható ki koronarográfiával igazolt koronária ateroszklerózisban szenvedő betegek esetében, mely a klasszikus aktivációs úton keresztül valósul meg. A magas felvételi plazma C1rC1sC1-INH érték függtelen prediktornak bizonyult a koronária ateroszklerózis vonatkozásában. A jövőben a klasszikus út aktivációs komplex esetlegesen hasznos marker lehet és segítheti a stabil koronária betegek korai rizikó stratifikálását és terápiás döntéseit.

## **5.2. Komplement aktiváció vizsgálata invazív koronária beavatkozás során stabil angina pectoris esetén**

Vizsgálataink ezen részében a perkután koronária intervenció során megfigyelhető komplement rendszer aktivációt elemeztük és hasonlítottuk össze a diagnosztikus koronarográfia során létrejövő változásokkal. Továbbá arra kerestük a választ, hogy van-e különbség az elektív és az akut esetben elvégzett PCI során észlelhető komplement aktiváció között.



Eredményeink alapján elmondható, hogy stabil angina pektorisban elvégzett elektív PCI során komplement rendszer aktiváció mutatható ki, - mely a szignifikánsan emelkedett C3bBbP komplement aktivációs komplex alapján - az alternatív úton keresztül valósul meg. Az aktiváció gyors, 6 órával a beavatkozás után már kimutatható, és 24 órával később lecseng, gyakorlatilag a felvételi értékre tér vissza. Önmagában a diagnosztikus koronarográfia, hasonlóan a PCI-hoz, komplement rendszer aktivációt okoz, mely szintén az alternatív úton keresztül valósul meg. Kinetikájában is megegyezően, 6 órával a koronarográfia után már kimutatható, majd 24 órával a beavatkozás után gyakorlatilag a kiindulási értékre tér vissza. Mindezek alapján feltételezzük, hogy maga az invazív koronária beavatkozás, a katéter bevezetés, a kontrasztanyag beadás, tehát az intravaszkuláris mechanikus manipuláció lehet felelős a kimutatható komplement aktivációért.

Mivel az alternatív úton keresztül létrejövő komplement aktivációhoz párhuzamosan nem társult terminális komplement komplex SC5b-9 képződés, feltételezzük, hogy ennek az alternatív úton keresztül megvalósuló komplement aktivációnak lényeges kóros hatása nincs.

A perkután módon elvégzett katéteres revaszkularizációs technikák az elmúlt évtizedben hatalmas fejlődésen mentek keresztül. Az endovaszkuláris invazív technikák kevésbé megterhelőek a betegek számára, kisebb a szövődmény kialakulásának valószínűsége és gyorsabb a beavatkozás, összehasonlítva az ér- és szívsebészeti műtétekkel [102]. Bár a PCI javítja a miokardiális perfúziót és a klinikai végkimenetelt iszkémiás szívbetegek esetében, a kezelt koronária mechanikai traumát szenved a beavatkozás alatt. Ennek alapja az endotélium „csupasszá válása”, a rigid fém sztent okozta endovaszkuláris laceráció, a nagy nyomású ballonos tágítás, melyek egy intenzív lokális gyulladással válaszreakciót indítanak el. PCI alatt bekövetkező érfalkárosodás is szerepet játszik a potenciális komplikációk kialakulásában: a neointima burjánzás okozta in-szent rezstenózis, és a gyakran letális végkimenetelű akut sztent trombózis kialakulásában [103].

Számos korábbi vizsgálat eredménye alapján, szisztémás gyulladással válaszreakció mutatható ki PCI után [104-107]. *Almagor és munkacsoportja* igazolta, hogy szignifikánsan emelkedett „high sensitive CRP” (hsCRP) detektálható a plazmában mind elektív, mind akut primer PCI-t követően 20 órával (non-ST elevációs akut

miokardiális infarktus esetén). A kontrollesoportban alkalmazott diagnosztikus koronarográfia esetén szintén szignifikáns emelkedést detektáltak hsCRP értékében [106]. *Aggarwall és munkacsoportja* bizonyította, hogy az interleukin-6 szignifikáns emelkedést mutatott a plazmában már 1 órával a PCI-t követően [107].

*Boos és munkacsoportja* endoteliális diszfunkció és sérülés markereit (keringő endotélsejtek, von Willebrand faktor, szolubilis E-szelektin) vizsgálta stabil koronária betegek körében elvégzett elektív koronarográfia és PCI során. Mindhárom endoteliális marker esetében szignifikáns emelkedést tapasztaltak már 15 perccel, továbbá 24 órával PCI után. Diagnosztikus koronarográfia esetén azonban ez az emelkedés nem volt megfigyelhető [108].

Az invazív koronária beavatkozás lokális és szisztémás vaszkuláris hatásait vizsgálva leírásra került, hogy bár az endotéliumra gyakorolt mechanikus trauma nem tartható nagynak, mégis, szisztémásan kimutatható a csontvelőből származó keringő hematopoetikus progenitor sejtek (HPC, CD45+ és CD34+) mobilizációja PCI-t követően. Érdekes módon, már közvetlenül PCI után szignifikánsan emelkedett volt a HPC szám, a legmagasabb 6 órával a beavatkozást követően és 7 napig szignifikánsan emelkedett maradt az értéke [109]. Számos további szolubilis markerről - VCAM-1, CD40L, IGF-1 és HGF – igazolódott, hogy szignifikánsan emelkedést mutatnak PCI után [110].

Az általunk igazolt, alternatív úton keresztül megvalósuló komplement aktiváció diagnosztikus koronarográfia és PCI során új eredménynek tekinthető. Vizsgálatunkban 6 órával az invazív koronária beavatkozás után detektáltunk szignifikánsan emelkedett C3bBbP komplement aktivációs komplex értéket, mely 24 órával a beavatkozás után a kiindulási értékre tért vissza. Ez a kinetika egy gyors, szisztémás válaszreakciót jelez, mely mind a diagnosztikus koronarográfia, mind PCI során megvalósul. Legjobb tudomásunk szerint, az irodalomban igen kevés eredmény található a komplement rendszer aktiváció vizsgálatáról invazív beavatkozás során, eltérő eredményekkel [80, 111-113].

*Speidl és munkatársai* 82 elektív PCI-on átesett stabil anginás beteg esetében elemezték a C3a és C5a közös közti termékek értékeit. Eredményeik szerint, a C5a komplement fehérje értéke szignifikánsan emelkedett PCI után, míg a C3a értéke nem. Kiemelendő azonban, hogy a vizsgálatban nem történt meg a különböző komplement

aktivációs utak elemzése, tehát nem ismert, hogy melyik úton keresztül valósult meg az aktiváció [80]. *Hognestad és munkacsoportja* 11 szív transzplantáción átesett beteget vizsgált, akik koszorúér-allograft vaszkulopátia (CAV) miatt PCI-on estek át. Kontrollcsoportként 10 ateroszklerotikus érbeteg szolgált. PCI szignifikáns emelkedést okozott hsCRP értékében, mindkét betegcsoportban. vWf hasonlóan szignifikáns emelkedést okozott a kontrollcsoportban. A komplement rendszer vonatkozásában nem találtak szignifikáns emelkedést [113]. Kiemelendő, hogy a vizsgálatban vérvétel PCI után 24 órával és 6 hónappal történt, így nem kizárható, hogy mégis létrejött komplement aktiváció, azonban a 24 órás időablakon belül, és a mérés időpontjában az már lecsengő kinetikát mutatott.

*Széplaki és munkatársai* C3a komplement fehérje szignifikáns emelkedését detektálták közvetlenül artéria karotisz endarterektómiát követően, ugyanakkor érdekes módon, karotisz artéria sztentelés után nem [84].

Hasonlóan munkacsoportunk eredményeihez, egy korábbi vizsgálatban szignifikánsan emelkedett C3bBbP értéket igazoltak mellkas-hasi aorta aneurizma műtéti ellátását követően, 8 órával az aorta lefogása után. Érdekes módon nemcsak az alternatív út aktivációra jellemző C3bBbP volt emelkedett, hanem a C4bc, C1rsC1-INH, C3bc, SC5b-9 is [86].

*Deftereos és munkacsoportja* publikálta, hogy a koronarográfia során használt ionosmagas ozmolaritású kontrasztanyag kapcsolatba hozható fokozott komplement aktivációval. Vizsgálataik során azonban csak egyetlen komplement fehérje került elemzésre, a C5a [114]. Igen kevés adat áll rendelkezésre a komplement rendszer és kontrasztanyagok vonatkozásában. Habár a vizsgálatunk során PCI csoportban szignifikánsan több kontrasztanyag használata történt, összehasonlítva diagnosztikus koronarográfia csoporttal, a kontrasztanyag indukálta komplement aktiváció feltételezhetően nem koncentrációfüggő.

Stabil anginás betegeinket a 6 órás C3bBbP medián értéke szerint tercilisekre bontva igazolódott, hogy a legmagasabb tercilisbe tartozó betegek szignifikánsan több kontrasztanyagot kaptak, mint a legalacsonyabb tercilisbe tartozók. Továbbá gyenge, de szignifikáns korreláció volt kimutatható a 6 órás C3bBbP plazmaszintje és az alkalmazott kontrasztanyag mennyisége között. Mindezek alapján feltételezhető, hogy az intravaszkuláris manipuláción túl magának a kontrasztanyagnak fontos szerepe lehet

a létrejövő komplement aktivációban. Fontos azonban megjegyezni, hogy mivel az alternatív út aktivációját nem követte a terminális komplement komplex SC5b-9 emelkedése, feltételezzük, hogy a megvalósuló komplement aktiváció átmeneti, annak kóros, szisztémás hatása nincs.

A legmagasabb tercilis csoportban szignifikánsan magasabb post-procedurális CK érték igazolódott. Korábbi vizsgálatok szerint a közepes fokú CK emelkedés sikeres koronária intervenciót, vagy arterektómiát követően összefüggést mutat az adverz hosszútávú kimenetellel [115, 116]. Ezzel ellentétben, egy másik tanulmány szerint a közepes fokú CK-MB emelkedés nem hozható összefüggésbe a hosszútávú kimenetellel [117]. *Saucedo és munkacsoportja* szerint, a kardiális nekroenzim emelkedés leginkább a magas rizikójú betegeket azonosítja, akik egyfajta közös klinikai- és angiográfias karakterrel jellemezhetőek [118].

Összefoglalóan elmondható, hogy stabil angina pectorisban elvégzett diagnosztikus koronarográfia és PCI során egy korai, reverzibilis, alternatív úton keresztül megvalósuló komplement aktiváció mutatható ki, melyben feltételezhetően a mechanikus manipuláción túl az alkalmazott kontrasztanyag is fontos szerepe lehet.

### **5.3. Komplement aktiváció vizsgálata primer PCI során ST-elevációs akut koronária szindrómában**

Stabil angina pectorisban végzett elektív PCI-t követő komplement aktivációt hasonlítottuk össze ST-elevációs akut koronária szindrómában végzett primer PCI-t kísérő aktivációval. Érdekes módon, primer PCI-t követően nem tapasztaltunk komplement rendszer aktivációt egyik vizsgált komplement aktivációs úton keresztül sem.

Elemelve a felvételi komplement aktivációs komplexek értékeit, szignifikánsan emelkedett C3bBbP igazolódott STEMI betegcsoportban, összehasonlítva stabil koronária betegekkel. Ezt az emelkedést szignifikánsan magasabb terminális komplex SC5b-9 kísérte. Mindezek alapján feltételezhető, hogy miokardiális infarktusból a komplement rendszer már aktiválódott az iszkémiás esemény során és a primer PCI önmagában, ellentétben stabil betegcsoporttal, nem okoz detektálható komplement aktivációt.

Miokardiális infarktus esetén az iszkémiás esemény során felszabaduló trombolitikus anyagok [119] és mitokondriális alkotóelemek [120], továbbá a reperfüziós károsodás [25] is okozhat komplement aktivációt.

Irodalmi adatok alapján ismert, hogy a humán miokardiumban iszkémia során komplement depozitumok mutathatóak ki [121, 122], továbbá a koronária trombusban C3, C3a, C5a és C1q komplement fehérjék detektálhatóak [78]. Ugyanebben a plazmában a trombus körül bekövetkező neutrofil leukocita akkumuláció a C5 komplement aktivációs fehérje által fokozott kemotaxison keresztül valósul meg [78]. A miokardiális infarktus több ismert állatkísérletes modellje során, a klasszikus-, az alternatív- és a lektin út lokális aktivációja is kimutatható az iszkémiás miokardium területén [123, 124].

*Iltumur és munkacsoportja* párhuzamos módon, szignifikánsan emelkedett C3 és C4 komplement fehérjét igazolt [79], míg egy másik tanulmányban, emelkedett C3a, C5a és C5b-9 [75], valamint Bb, C4d, C3d és SC5b-9 [8] volt kimutatható a plazmában akut miokardiális infarktus során. Egy nemrég publikált vizsgálat szerint emelkedett C1q komplement fehérje mutatható ki a plazmában akut koronária szindróma során [125]. Mindezek alapján elmondható, hogy akut iszkémiás esemény során létrejövő komplement aktiváció eltérő entitású és patomechanizmusú, összetettebb folyamat, mint stabil körülmények között.

Fontos kiemelni, hogy az iszkémiás miokardiumban lassan, órák alatt történik a komplement depozitumok lerakódása, míg maga a komplement aktiváció igen gyorsan, a reperfüziót követően már percekkel később kimutatható [126]. Tekintettel arra, hogy vizsgálatunkban az okkludált koronária megnyitását követően az első vérvétel 6 órával történt, elképzelhető, hogy ekkor már csak a lecsengő kinetikát detektáltuk, és a reperfüziót követő gyors komplement aktivációhoz egy sokkal korábbi időpontban kellett volna mintát vennünk.

STEMI csoportban emelkedett terminális komplex SC5b-9 volt megfigyelhető, mely a miokardiális károsodás potenciális markereként funkcionálhat. Több vizsgálat is igazolta, hogy az emelkedett felvételi SC5b-9 értéke független prediktornak tekinthető a halálzási rizikó és a szekunder események bekövetkezése szempontjából [76]. Eredményeink alapján, a 6 órás SC5b-9 szignifikáns korrelációt mutatott az összes, post-procedurális kardiális nekroenzimmel. Hasonló eredményeket publikált *Yasuda és*

*munkacsoportja*, ahol az SC5b-9 szignifikáns mértékben korrelált a csúcs CK értékkel miokardiális infarktus során [8]. Ismert, hogy nagyszámú SC5b-9 direkt citolitikus hatással rendelkezik, így potenciózza az iszkémiás esemény során bekövetkező nekrozist és apoptózist [30]. Továbbá, indirekt módon növeli az adhézios molekulák számát és a lokális citokin szekréciót a károsodott területen [52, 127].

Összefoglalóan elmondható, hogy vizsgálatunk során ST-elevációs akut miokardiális infarktusban komplement rendszer aktiváció mutatható ki, mely az alternatív úton keresztül valósul meg. A primer PCI során nem detektáltunk további komplement rendszer aktivációt, ellentétben az elektív körülményekkel. Fontos kiemelni, hogy vizsgálatunknak ebben a szakaszában a lektin út vizsgálatára nem volt lehetőség, így ezen út részvétele a folyamatban nem kizárható.

#### **5.4. Komplement aktiváció vizsgálata makroszkóposan ép koszorúserekkel rendelkező stabil angina pectorisban**

Típusos mellkasi fájdalom és pozitív iszkémia provációs teszt ellenére stabil koronária betegek egy részében az invazív koronária beavatkozás makroszkóposan ép koszorúsereket ábrázolt. Tekintettel arra, hogy vizsgálataink első pontjában ezen betegcsoportban szignifikánsan magasabb SC5b-9 igazolódott, azonban ezt nem követte sem az alternatív (C3bBbP), sem a klasszikus úton (C1rC1sC1-INH) keresztül megvalósuló aktiváció, arra kerestük a választ, hogy azonosítható-e a lektin úton keresztül megvalósuló komplement aktiváció.

Vizsgálataink harmadik részében szignifikánsan alacsonyabb szérum fikolin-2, fikolin-3, fikolin-3/MASP-2 komplex és az FCN3-TCC depozíció igazolódott NC csoportban, melyet szignifikánsan emelkedett SC5b-9 (TCC) kísért, összehasonlítva egészséges kontrollcsoporttal és igazolt ateroszklerotikus koronáriabetegekkel. Továbbá, szignifikáns korreláció igazolódott az SC5b-9 (TCC) és az FCN3-TCC depozíció, a fikolin-3/MASP-2 komplex és az FCN3-TCC depozíció között NC betegcsoportban. Feltevéseink szerint ennek hátterében a lektin út aktiválódása állhat. Ebben az esetben az aktivátorok, tehát a fikolin-2 és fikolin-3 felhasználnak az aktivációs kaszkád során, tehát a vérvétel időpontjában, a szérumban található értékük alacsonyabb, mint ott, ahol ilyen aktiváció nem történik. Hasonlóan, mivel az iniciátor

molekulák a kaszkádszerű aktiváció során fogynak, a fikolin3/MASP-2 komplex is kevesebb lesz. Az FCN3-TCC depozíció mérése során fikolin-3 specifikus aktivátorral aktiváltuk a szérum mintáinkat és mértük az így keletkező FCN3-TCC koncentrációját *in vitro*. Tekintettel arra, hogy az így kapott, *in vitro* mért FCN3-TCC szignifikánsan alacsonyabb értéket ért el, feltételezzük, hogy a lektin út aktivációja *in vivo* már megtörtént. Eredményeinket alátámasztja, hogy ezen betegcsoportban szignifikánsan magasabb volt az aktivációs végtermék SC5b-9 (TCC) értéke.

Korábbi eredmények alapján, típusos mellkasi fájdalmak miatt invazív kardiológiai kivizsgálásra kerülők nők több, mint felénél, míg a férfiak egyharmadánál nincs kimutatható obstruktív koronária elváltozás [10], [11]. Évtizedekig tartotta magát az a nézet, hogy ez egy benignus, kiváló prognózisú kórkép, csupán életminőségbeli romlást képes okozni. Fontos azonban hangsúlyozni, hogy típusos anginás panaszok és miokardiális iszkémiára jellemző elváltozások ellenére obstruktív koronária eltéréssel nem rendelkező nők esetében magasabb kardiovaszkuláris rizikó igazolódott az 5 éves kardiovaszkuláris események vonatkozásában, összehasonlítva tünetmentes társaikkal [12]. Egy 11 éves, több, mint 11000 stabil angina pectoris miatt invazív kardiológiai kivizsgálásra kerülő beteg bevonásával végzett koppenhágai vizsgálat eredménye alapján, azok a betegek, akiknél a koronarográfia makroszkóposan ép, vagy non-szignifikáns koszorúér eltérést igazolt, a major kardiovaszkuláris események előfordulása, továbbá az összhalálozás szignifikánsan magasabb volt, összehasonlítva nem iszkémiás szívbetegekkel [13]. A fent részletezett vizsgálatok eredményei is alátámasztják, hogy ezen betegcsoportot stabil anginán belül önálló entitásként ajánlott kezelni és lényeges szem előtt tartani, hogy a makroszkóposan negatív epikardiális koszorúserek ellenére a betegek egy magasabb kardiovaszkuláris kockázatot képviselnek.

Az irodalomban „Kardiális X-szindrómaként” is ismert betegség [9] gyakrabban fordul elő nők esetében, ezen belül is posztmenopauzális időszakban. Eredete a mai napig nem pontosan tisztázott. A két legelfogadottabb hipotézis szerint a jelenség hátterében a koronáriák mikrovaszkuláris károsodása, továbbá kóros miokardiális fájdalomérzékelés állhat [15, 16, 17, 18]. Irodalmi adatok szerint, korai stádiumban jellemző a csökkent endotélium-dependens (acetil-kolinnal kiváltható) és ettől független (papáverinnel és gliceril-trinitráttal kiváltható) koronária vazodilatáció mértéke is [128].

Továbbá, a miokardiális iszkémia metabolikus komponensei is kimutathatóak [129]. *Maseri és munkacsoportja* eredményei szerint ebben az esetben igen kis, elszórva elhelyezkedő miokardiális területek fokális érintettségéről van szó és a prearteriolás diszfunkció okozza a fokális iszkiámiát [130].

Az intakt endotélium egy biokompatibilis felszín, mely „rejtve” marad a komplement rendszer elől [131]. Amennyiben az endotélium károsodik, úgy a véráramlás közvetítésével komplement aktiváció következik be. Számos korábbi vizsgálat igazolta a komplement rendszer aktivációját olyan patofiziológiai állapotokban, melyeknek alapja a mikrovaszkuláris károsodás, így nefropátiában, retinopátiában, neuropátiában. 1-es és 2-es típusú diabétesz mellitusz állatkísérletes modelljében aktivált C3 komplement fehérje volt kimutatható a vese glomerulusokban és a glomerulusok kapillárisaiban [132]. Egy másik publikáció eredményi alapján, aktivált C3 komplement fehérje és terminális komplex C5b-9 található a retinális érhálózatban [133] és a koriokapillárisokban [134] diabéteszes retinopátiában szenvedő betegeknél. Hasonlóan, aktivált C3 komplement fehérje és terminális komplex C5b-9 jelenléte volt bizonyítható az endoneurális mikrovaszkulátúrában diabéteszes neuropátia esetében [135]. Mindezek alapján feltételezhető, hogy a komplement rendszer aktivációjának szignifikáns szerepe van a mikrovaszkuláris károsodás létrejöttében és progressziójában, mely patofiziológiai alapja lehet számos kórképnek, így a koronária mikrovaszkuláris károsodásának is. A fellelhető irodalmi adatok alapján nem áll rendelkezésre olyan vizsgálat, mely a komplement rendszert vizsgálta volna ezen betegcsoportban. Eredményeink szerint, a szignifikánsan alacsonyabb szérum fikolin-2, fikolin-3 és fikolin-3/MASP-2 komplex a lektin út produktumainak esetleges subendoteliális mátrixban történő depozícióját is jelezheti. Ismert, hogy a lektin út produktumai képesek az endotél sejtek felszínén található patológias struktúrákhoz kötődni. Leírásra került, hogy a fikolinok az acetil- csoportot ismerik fel, mint az N-acetilglukózamin [136, 137], vagy a glukán [138]. A cukorcsoportok mellett képesek elasztin és DNA megkötésére is [139]. Egy másik lehetséges mechanizmus a közös végtermék SC5b-9 (TCC) endotélsejteken megvalósuló direkt citolitikus hatása [22], mely fontos eleme lehet az endotél diszfunkció kialakulásának.

A „kardiális X-szindrómában” szenvedő betegcsoport azonosítása napjaikban nehéz, sokszor időigényes és költséges (invazív koronária beavatkozás, koronária CT).



Időben történő azonosításuk viszont kiemelkedően fontos, hiszen kardiovaszkuláris szempontból magasabb kockázati csoportot jelentenek. Továbbá a későbbi, obstruktív koronária betegség alapját képző patofiziológiai eltérések, kockázati faktorok megfelelő kezelésével és kontrolljával a betegség progressziója lassítható, esetlegesen megállítható. Eredményeink alapján ebben a betegcsoportban a komplement rendszer lektin út produktumainak felhasználódása figyelhető meg. A későbbiekben esetlegesen további, nagy betegszámú vizsgálat azonosíthatná a lektin út produktumainak prognosztikai szerepét, így hatékonyan támogatva az eddig alkalmazott diagnosztikus algoritmusokat.

Összefoglalva elmondható, hogy szignifikánsan alacsonyabb fikolin-2, fikolin-3, fikolin-3/MASP-2 komplex és FCN3-TCC depozíció igazolódott, szignifikánsan magasabb SC5b-9 (TCC) értékkel stabil angina pektorisban szenvedő betegek körében, akiknél a koronarográfia makroszkóposan ép koszorúsereket igazolt. Eredményeink a lektin úton keresztül megvalósuló komplement rendszer aktivációt jelezhetik, mely fontos szerepet játszhat a Kardiális X-szindróma patofiziológiájában.

## 6. KÖVETKEZTETÉSEK

**6.1.** A koronarográfiával igazolt ateroszklerotikus koronária betegekben komplement rendszer aktiváció figyelhető meg, mely a klasszikus komplement aktivációs úton keresztül valósul meg.

**6.2.** Az emelkedett klasszikus út aktivációs komplex plazmaszintje (C1rC1sC1-INH) független prediktornak bizonyult az ateroszklerotikus koszorúér betegség szempontjából ( $p=0.026$ , OR: 65.273, 95% CI: 1.628-2616.284). A klasszikus út komplexének esetleges jövőbeli klinikai hasznosítása elősegíthetné az iszkémiás betegek rizikó stratifikálását, segíthetné a diagnosztikus algoritmust, továbbá támpont lehetne a terápiás döntések szempontjából.

**6.3.** Iszkémiás szívbetegség stabil formájában elvégzett elektív diagnosztikus koronarográfia és a perkután koronária intervenció során a komplement rendszer alternatív útjának átmeneti aktivációja figyelhető meg. A komplement aktiváció korai, 6 órával a beavatkozást követően szignifikánsan emelkedett C3bBbP komplement aktivációs komplex képződéssel jár, 24 órával a beavatkozást követően pedig a kiindulási értékre tér vissza. Feltételezhetően a mechanikus manipuláción túl az alkalmazott kontrasztanyagnak is fontos szerepe lehet az aktivációban. Továbbá, mivel az alternatív út aktivációját nem követte a terminális komplex SC5b-9 emelkedése, feltételezzük, hogy a megvalósuló komplement aktiváció reverzibilis, annak kóros, szisztémás hatása nem valószínű.

**6.4.** ST-elevációs akut miokardiális infarktusból azonnali komplement rendszer aktiváció mutatható ki, mely az alternatív úton keresztül valósul meg, ezt támasztja alá a szignifikánsan emelkedett C3bBbP értéke. Ezt az aktivációt a terminális komplex SC5b-9 emelkedése is követi.

A primer PCI-t követően már nem detektáltunk további komplement rendszer aktivációt, ellentétben az elektív körülmények között elvégzett PCI során.

**6.5.** ST-elevációs akut miokardiális infarktusból 6 órával a felvételt követően mért terminális komplex SC5b-9 plazmaszintje szignifikáns korrelációt mutat az összes, post-procedurálisan mért nekroenzimmel. Eredményeink alapján felvetődik, hogy a terminális komplex SC5b-9 a miokardiális károsodás fontos markereként funkcionálhat.

**6.6.** Szignifikánsan alacsonyabb szérumban fikolin-2, fikolin-3, fikolin-3/MASP-2 komplex és FCN3-TCC depozíció igazolódott a „kardiális X-szindrómában” szenvedő betegek esetében, szignifikánsan magasabb terminális komplex SC5b-9 értékkel, összehasonlítva egészséges kontrollcsoporttal és igazolt ateroszklerotikus koronária betegekkel. Eredményeink a lektin úton produktumainak felhasználódását jelezhetik, mely a komplement rendszer aktiválódása közben jön létre.

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS

A komplement rendszer az egészséges immunrendszer nélkülözhetetlen része. Habár az ateroszklerózis multifaktoriális megbetegedés, patogenezisében a komplement rendszer kiemelten fontos szerepet játszik. Célkitűzésünk az iszkémiás szívbetegség különböző formáiban létrejövő komplement aktiváció elemzése volt, melyhez a klasszikus út (C1rC1sC1-INH), az alternatív út (C3bBbP) és a közös végtermék (SC5b-9) plazmaszintjeit, továbbá a lektin út produktumait határoztuk meg.

Vizsgálatunk első részében stabil koronária betegekben megvalósuló komplement aktivációt, majd az aktivációs komplexek prognosztikai értékét elemeztük. Eredményeink alapján az iszkémiás szívbetegség ezen formájában a klasszikus komplement út aktivációja mutatható ki. A felvételi emelkedett C1rC1sC1-INH plazmaszint független prediktornak bizonyult az ateroszklerotikus koronária betegség szempontjából ( $p=0.026$ , OR: 65.273, 95% CI: 1.628-2616.284).

Vizsgálatunk második részében az invazív koronária beavatkozást (diagnosztikus koronarográfia és PCI) követő komplement aktivációt elemeztük stabil anginás betegcsoportban, összehasonlítva akut ST-elevációs miokardiális infarktus során végzett primer PCI-al. Elektív esetben mind a diagnosztikus koronarográfia, mind a PCI során alternatív komplement aktiváció mutatható ki, melyet a beavatkozás után 6 órával szignifikánsan emelkedett C3bBbP érték jelez és nem kísért terminális komplex emelkedés. A mechanikus manipuláción túl feltehetően a kontrasztanyag alkalmazásának is fontos szerepe lehet az aktivációban. ST-elevációs akut miokardiális infarktus során már felvételkor emelkedett C3bBbP igazolódott terminális komplex növekedéssel; a primer PCI önmagában nem váltott ki további komplement aktivációt.

Típusos anginás panaszok és miokardiális iszkémia ellenére makroszkóposan ép koszorúerekkel rendelkező koronária betegekben fokozott terminális komplex SC5b-9 képződés volt megfigyelhető, melyet nem kísért a klasszikus-, vagy alternatív komplement út aktivációja. Ezen betegeknél csökkent fikolin-2, fikolin-3, fikolin-3/MASP-2, fikolin-3 mediálta TCC depozíció igazolódott, összehasonlítva ateroszklerotikus koronária betegekkel és egészséges önkéntesekkel. Eredményeink a lektin út produktumainak felhasználódását jelzik a megvalósuló komplement aktiváció során. Összefoglalva, vizsgálataink új részletes adatokat szolgáltatnak a komplement rendszer aktivációját illetően az iszkémiás szívbetegség különböző formáiban.

## 7. SUMMARY

The complement system is a part of the healthy immune system and plays an important role in the pathogenesis of atherosclerosis. Its complex contribution to the development of cardiovascular disease was elucidated only in the last decades. Our aim was to clarify the impact of complement system activation in different forms of coronary heart disease. Since the complement system can be activated via three different pathways, we examined plasma/serum levels of the classical (C1rC1sC1-INH), the lectin and the alternative (C3bBbP) pathway activation products and the common end-product terminal complex (SC5b-9).

In the first part of our study we examined the complement system activation and the prognostic value of the complement activation products. Our results indicate complement activation *via* the classical pathway in stable angina patients. Moreover, as evidenced by multiple logistic regression analysis, high C1rC1sC1-INH levels were characteristic for coronary atherosclerosis, suggesting potential role of C1rC1sC1-INH as an independent biomarker of atherosclerotic coronary heart disease ( $p=0.026$ , OR: 65.273, 95% CI: 1.628-2616.284). In the second part, we determined the complement activation during invasive coronary procedure both in acute (ST-elevation acute myocardial infarction) and elective (SAP patients) conditions. In elective SAP patients, significant, reversible increase of plasma C3bBbP levels - as the activation product of the alternative pathway - was observed six hours after PCI or diagnostic coronary angiography. We postulated that not only the mechanical manipulation but the contrast material injection might have significant role. In STEMI patients, baseline levels of C3bBbP and the terminal complex were significantly higher, compared to SAP patients. Further increase of complement activation products was not observed after primary PCI.

In patients with typical angina pectoris, inducible myocardial ischemia and macroscopically normal coronaries, significantly elevated plasma level of the common end-product terminal complex SC5b-9 was found without subsequent activation of the classical or the alternative pathways. In contrast, the lectin pathway was altered: low levels of ficolin-2, ficolin-3, ficolin-3/MAPS-2 and ficolin-3 mediated TCC deposition potentially represent upstream consumption and consequent, downstream terminal complement complex activation. The above results provide new, detailed data concerning contribution of the complement activation to cardiovascular pathology.

**8. IRODALOMJEGYZÉK**

1. Dawber, T.R., W.B. Kannel. (1966) The Framingham study. An epidemiological approach to coronary heart disease. *Circulation*, 34(4): 553-5.
2. Folsom, A.R., F.J. Nieto, P.G. McGovern, M.Y. Tsai, M.R. Malinow, J.H. Eckfeldt, D.L. Hess, C.E. Davis. (1998) Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*, 98(3): 204-10.
3. Cantin, B., F. Gagnon, S. Moorjani, J.P. Després, B. Lamarche, P.J. Lupien, G.R. Dagenais. (1998) Is lipoprotein(a) an independent risk factor for ischemic heart disease in men? The Quebec Cardiovascular Study. *J Am Coll Cardiol*, 31(3): 519-25.
4. Scarabin, P.Y., M.F. Aillaud, P. Amouyel, A. Evans, G. Luc, J. Ferrières, D. Arveiler, I. Juhan-Vague. (1998) Associations of fibrinogen, factor VII and PAI-1 with baseline findings among 10,500 male participants in a prospective study of myocardial infarction--the PRIME Study. *Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction. Thromb Haemost*, 80(5): 749-56.
5. Montalescot, G., U. Sechtem, S. Achenbach, F. Andreotti, C. Arden, A. Budaj, R. Bugiardini, F. Crea, T. Cuisset, C. Di Mario, J.R. Ferreira, B.J. Gersh, A.K. Gitt, J.S. Hulot, N. Marx, L.H. Opie, M. Pfisterer, E. Prescott, F. Ruschitzka, M. Sabaté, R. Senior, D.P. Taggart, E.E. van der Wall, C.J. Vrints, J.L. Zamorano, H. Baumgartner, J.J. Bax, H. Bueno, V. Dean, C. Deaton, C. Erol, R. Fagard, R. Ferrari, D. Hasdai, A.W. Hoes, P. Kirchhof, J. Knuuti, P. Kolh, P. Lancellotti, A. Linhart, P. Nihoyannopoulos, M.F. Piepoli, P. Ponikowski, P.A. Sirnes, J.L. Tamargo, M. Tendera, A. Torbicki, W. Wijns, S. Windecker, M. Valgimigli, M.J. Claeys, N. Donner-Banzhoff, H. Frank, C. Funck-Brentano, O. Gaemperli, J.R. Gonzalez-Juanatey, M. Hamilos, S. Husted, S.K. James, K. Kervinen, S.D. Kristensen, A.P. Maggioni, A.R. Pries, F. Romeo, L. Rydén, M.L. Simoons, P.G. Steg, A. Timmis, A. Yildirim, T.F. Members, E.C.f.P. Guidelines, D. Reviewers. (2013) 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary

- artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 34(38): 2949-3003.
6. Campeau, L. (1976) Letter: Grading of angina pectoris. *Circulation*, 54(3): 522-3.
  7. Genders, T.S., E.W. Steyerberg, H. Alkadhi, S. Leschka, L. Desbiolles, K. Nieman, T.W. Galema, W.B. Meijboom, N.R. Mollet, P.J. de Feyter, F. Cademartiri, E. Maffei, M. Dewey, E. Zimmermann, M. Laule, F. Pugliese, R. Barbagallo, V. Sinitsyn, J. Bogaert, K. Goetschalckx, U.J. Schoepf, G.W. Rowe, J.D. Schuijf, J.J. Bax, F.R. de Graaf, J. Knuuti, S. Kajander, C.A. van Mieghem, M.F. Meijs, M.J. Cramer, D. Gopalan, G. Feuchtner, G. Friedrich, G.P. Krestin, M.G. Hunink, C. Consortium. (2011) A clinical prediction rule for the diagnosis of coronary artery disease: validation, updating, and extension. *Eur Heart J*, 32(11): 1316-30.
  8. Yasuda, M., K. Takeuchi, M. Hiruma, H. Iida, A. Tahara, H. Itagane, I. Toda, K. Akioka, M. Teragaki, H. Oku. (1990) The complement system in ischemic heart disease. *Circulation*, 81(1): 156-63.
  9. Kemp, H.G. (1973) Left ventricular function in patients with the anginal syndrome and normal coronary arteriograms. *Am J Cardiol*, 32(3): 375-6.
  10. Shaw, L.J., R.E. Shaw, C.N. Merz, R.G. Brindis, L.W. Klein, B. Nallamothu, P.S. Douglas, R.J. Krone, C.R. McKay, P.C. Block, K. Hewitt, W.S. Weintraub, E.D. Peterson, A.C.o.C.-N.C.D.R. Investigators. (2008) Impact of ethnicity and gender differences on angiographic coronary artery disease prevalence and in-hospital mortality in the American College of Cardiology-National Cardiovascular Data Registry. *Circulation*, 117(14): 1787-801.
  11. Sharaf, B.L., C.J. Pepine, R.A. Kerensky, S.E. Reis, N. Reichek, W.J. Rogers, G. Sopko, S.F. Kelsey, R. Holubkov, M. Olson, N.J. Miele, D.O. Williams, C.N. Merz, W.S. Group. (2001) Detailed angiographic analysis of women with suspected ischemic chest pain (pilot phase data from the NHLBI-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation [WISE] Study Angiographic Core Laboratory). *Am J Cardiol*, 87(8): 937-41; A3.
  12. Gulati, M., R.M. Cooper-DeHoff, C. McClure, B.D. Johnson, L.J. Shaw, E.M. Handberg, I. Zineh, S.F. Kelsey, M.F. Arnsdorf, H.R. Black, C.J. Pepine, C.N.

- Merz. (2009) Adverse cardiovascular outcomes in women with nonobstructive coronary artery disease: a report from the Women's Ischemia Syndrome Evaluation Study and the St James Women Take Heart Project. *Arch Intern Med*, 169(9): 843-50.
13. Jespersen, L., A. Hvelplund, S.Z. Abildstrøm, F. Pedersen, S. Galatius, J.K. Madsen, E. Jørgensen, H. Kelbæk, E. Prescott. (2012) Stable angina pectoris with no obstructive coronary artery disease is associated with increased risks of major adverse cardiovascular events. *Eur Heart J*, 33(6): 734-44.
  14. Agrawal, S., P.K. Mehta, C.N. Bairey Merz. (2014) Cardiac Syndrome X: update 2014. *Cardiol Clin*, 32(3): 463-78.
  15. Bencze, J., R.G. Kiss, E. Toth-Zsomboki, K. Vargova, G. Kerecsen, A. Korda, F. Molnar, I. Preda. (2006) Inverse correlation between coronary blood flow velocity and sICAM-1 level observed in ischemic heart disease patients. *Atherosclerosis*, 188(1): 142-9.
  16. Al Suwaidi J, A. Lerman. (2000) Syndrome X. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 2(1): 73-82.
  17. Halcox, J.P., W.H. Schenke, G. Zalos, R. Mincemoyer, A. Prasad, M.A. Waclawiw, K.R. Nour, A.A. Quyyumi. (2002) Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation*, 106(6): 653-8.
  18. Pepine, C.J., R.D. Anderson, B.L. Sharaf, S.E. Reis, K.M. Smith, E.M. Handberg, B.D. Johnson, G. Sopko, C.N. Bairey Merz. (2010) Coronary microvascular reactivity to adenosine predicts adverse outcome in women evaluated for suspected ischemia results from the National Heart, Lung and Blood Institute WISE (Women's Ischemia Syndrome Evaluation) study. *J Am Coll Cardiol*, 55(25): 2825-32.
  19. Crea, F., P.G. Camici, C.N. Bairey Merz. (2014) Coronary microvascular dysfunction: an update. *Eur Heart J*, 35(17): 1101-11.
  20. Bjerre, M., T.K. Hansen, A. Flyvbjerg. (2008) Complement activation and cardiovascular disease. *Horm Metab Res*, 40(9): 626-34.
  21. Walport, M.J. (2001) Complement. Second of two parts. *N Engl J Med*, 344(15): 1140-4.



22. Walport, M.J. (2001) Complement. First of two parts. *N Engl J Med*, 344(14): 1058-66.
23. Trouw, L.A., M.R. Daha. (2011) Role of complement in innate immunity and host defense. *Immunol Lett*, 138(1): 35-7.
24. Chen, M., M.R. Daha, C.G. Kallenberg. (2010) The complement system in systemic autoimmune disease. *J Autoimmun*, 34(3): J276-86.
25. Oksjoki, R., P.T. Kovanen, S. Meri, M.O. Pentikainen. (2007) Function and regulation of the complement system in cardiovascular diseases. *Front Biosci*, 12: 4696-708.
26. Amara, U., D. Rittirsch, M. Flierl, U. Bruckner, A. Klos, F. Gebhard, J.D. Lambris, M. Huber-Lang. (2008) Interaction between the coagulation and complement system. *Adv Exp Med Biol*, 632: 71-9.
27. Huber-Lang, M., J.V. Sarma, F.S. Zetoune, D. Rittirsch, T.A. Neff, S.R. McGuire, J.D. Lambris, R.L. Warner, M.A. Flierl, L.M. Hoesel, F. Gebhard, J.G. Younger, S.M. Drouin, R.A. Wetsel, P.A. Ward. (2006) Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med*, 12(6): 682-7.
28. Sjöwall, C., J. Wetterö, T. Bengtsson, A. Askendal, G. Almroth, T. Skogh, P. Tengvall. (2007) Solid-phase classical complement activation by C-reactive protein (CRP) is inhibited by fluid-phase CRP-C1q interaction. *Biochem Biophys Res Commun*, 352(1): 251-8.
29. Groeneveld, T.W., M. Oroszlán, R.T. Owens, M.C. Faber-Krol, A.C. Bakker, G.J. Arlaud, D.J. McQuillan, U. Kishore, M.R. Daha, A. Roos. (2005) Interactions of the extracellular matrix proteoglycans decorin and biglycan with C1q and collectins. *J Immunol*, 175(7): 4715-23.
30. Nauta, A.J., L.A. Trouw, M.R. Daha, O. Tijmsa, R. Nieuwland, W.J. Schwaeble, A.R. Gingras, A. Mantovani, E.C. Hack, A. Roos. (2002) Direct binding of C1q to apoptotic cells and cell blebs induces complement activation. *Eur J Immunol*, 32(6): 1726-36.
31. Gasque, P. (2004) Complement: a unique innate immune sensor for danger signals. *Mol Immunol*, 41(11): 1089-98.

32. Basta, M. (2008) Ambivalent effect of immunoglobulins on the complement system: activation versus inhibition. *Mol Immunol*, 45(16): 4073-9.
33. Ganter, M.T., K. Brohi, M.J. Cohen, L.A. Shaffer, M.C. Walsh, G.L. Stahl, J.F. Pittet. (2007) Role of the alternative pathway in the early complement activation following major trauma. *Shock*, 28(1): 29-34.
34. Pangburn, M.K., H.J. Müller-Eberhard. (1978) Complement C3 convertase: cell surface restriction of beta1H control and generation of restriction on neuraminidase-treated cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 75(5): 2416-20.
35. Roumenina, L.T., C. Loirat, M.A. Dragon-Durey, L. Halbwachs-Mecarelli, C. Sautes-Fridman, V. Fremeaux-Bacchi. (2011) Alternative complement pathway assessment in patients with atypical HUS. *J Immunol Methods*, 365(1-2): 8-26.
36. Ma, Y.J., M.O. Skjoedt, P. Garred. (2013) Collectin-11/MASP complex formation triggers activation of the lectin complement pathway--the fifth lectin pathway initiation complex. *J Innate Immun*, 5(3): 242-50.
37. Garred, P., C. Honoré, Y.J. Ma, L. Munthe-Fog, T. Hummelshøj. (2009) MBL2, FCN1, FCN2 and FCN3-The genes behind the initiation of the lectin pathway of complement. *Mol Immunol*, 46(14): 2737-44.
38. Kuraya, M., M. Matsushita, Y. Endo, S. Thiel, T. Fujita. (2003) Expression of H-ficolin/Hakata antigen, mannose-binding lectin-associated serine protease (MASP)-1 and MASP-3 by human glioma cell line T98G. *Int Immunol*, 15(1): 109-17.
39. Kuraya, M., Z. Ming, X. Liu, M. Matsushita, T. Fujita. (2005) Specific binding of L-ficolin and H-ficolin to apoptotic cells leads to complement activation. *Immunobiology*, 209(9): 689-97.
40. Endo, Y., M. Matsushita, T. Fujita. (2011) The role of ficolins in the lectin pathway of innate immunity. *Int J Biochem Cell Biol*, 43(5): 705-12.
41. Pangburn, M.K., H.J. Müller-Eberhard. (1980) Relation of putative thioester bond in C3 to activation of the alternative pathway and the binding of C3b to biological targets of complement. *J Exp Med*, 152(4): 1102-14.
42. Law, S.K., R.P. Levine. (1977) Interaction between the third complement protein and cell surface macromolecules. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 74(7): 2701-5.

43. Ember, J.A., T.E. Hugli. (1997) Complement factors and their receptors. *Immunopharmacology*, 38(1-2): 3-15.
44. Esser, A.F. (1994) The membrane attack complex of complement. Assembly, structure and cytotoxic activity. *Toxicology*, 87(1-3): 229-47.
45. Niculescu, F., H. Rus. (2001) Mechanisms of signal transduction activated by sublytic assembly of terminal complement complexes on nucleated cells. *Immunol Res*, 24(2): 191-9.
46. Fosbrink, M., F. Niculescu, H. Rus. (2005) The role of c5b-9 terminal complement complex in activation of the cell cycle and transcription. *Immunol Res*, 31(1): 37-46.
47. Noris, M., G. Remuzzi. (2013) Overview of complement activation and regulation. *Semin Nephrol*, 33(6): 479-92.
48. Csuka, D., L. Munthe-Fog, M.O. Skjoedt, A. Kocsis, Z. Zotter, P. Gál, L. Varga, H. Farkas, G. Füst, P. Garred. (2013) The role of ficolins and MASPs in hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Mol Immunol*, 54(3-4): 271-7.
49. Conway, E.M. (2012) Thrombomodulin and its role in inflammation. *Semin Immunopathol*, 34(1): 107-25.
50. Skjoedt, M.O., T. Hummelshoj, Y. Palarasah, C. Honore, C. Koch, K. Skjodt, P. Garred. (2010) A novel mannose-binding lectin/ficolin-associated protein is highly expressed in heart and skeletal muscle tissues and inhibits complement activation. *J Biol Chem*, 285(11): 8234-43.
51. Langedeggen, H., M. Pausa, E. Johnson, C. Casarsa, F. Tedesco. (2000) The endothelium is an extrahepatic site of synthesis of the seventh component of the complement system. *Clin Exp Immunol*, 121(1): 69-76.
52. Tedesco, F., F. Fischetti, M. Pausa, A. Dobrina, R.B. Sim, M.R. Daha. (1999) Complement-endothelial cell interactions: pathophysiological implications. *Mol Immunol*, 36(4-5): 261-8.
53. Ghebrehiwet, B., E.I. Peerschke. (2004) cC1q-R (calreticulin) and gC1q-R/p33: ubiquitously expressed multi-ligand binding cellular proteins involved in inflammation and infection. *Mol Immunol*, 41(2-3): 173-83.

54. Bossi, F., F. Fischetti, V. Pellis, R. Bulla, E. Ferrero, T.E. Mollnes, D. Regoli, F. Tedesco. (2004) Platelet-activating factor and kinin-dependent vascular leakage as a novel functional activity of the soluble terminal complement complex. *J Immunol*, 173(11): 6921-7.
55. Endemann, D.H., E.L. Schiffrin. (2004) Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol*, 15(8): 1983-92.
56. Walton, K.W. (1975) Pathogenetic mechanisms in atherosclerosis. *Am J Cardiol*, 35(4): 542-58.
57. Ross, R. (1999) Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340(2): 115-26.
58. Széplaki, G., L. Varga, G. Füst, Z. Prohászka. (2009) Role of complement in the pathomechanism of atherosclerotic vascular diseases. *Mol Immunol*, 46(14): 2784-93.
59. Hollander, W., M.A. Colombo, D.M. Kramsch, B. Kirkpatrick. (1974) Immunological aspects of atherosclerosis. *Adv Cardiol*, 13: 192-207.
60. Libby, P. (2003) Vascular biology of atherosclerosis: overview and state of the art. *Am J Cardiol*, 91(3A): 3A-6A.
61. Hollander, W., M.A. Colombo, B. Kirkpatrick, J. Paddock. (1979) Soluble proteins in the human atherosclerotic plaque. With spectral reference to immunoglobulins, C3-complement component, alpha 1-antitrypsin and alpha 2-macroglobulin. *Atherosclerosis*, 34(4): 391-405.
62. Oksjoki, R., H. Jarva, P.T. Kovanen, P. Laine, S. Meri, M.O. Pentikäinen. (2003) Association between complement factor H and proteoglycans in early human coronary atherosclerotic lesions: implications for local regulation of complement activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23(4): 630-6.
63. Geertinger, P., H. Sorensen. (1973) Complement and arteriosclerosis. *Atherosclerosis*, 18(1): 65-71.
64. Torzewski, M., M. Klouche, J. Hock, M. Messner, B. Dorweiler, J. Torzewski, H.E. Gabbert, S. Bhakdi. (1998) Immunohistochemical demonstration of enzymatically modified human LDL and its colocalization with the terminal complement complex in the early atherosclerotic lesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 18(3): 369-78.

65. Seifert, P.S., I. Roth, W. Schmiedt, H. Oelert, N. Okada, H. Okada, S. Bhakdi. (1992) CD59 (homologous restriction factor 20), a plasma membrane protein that protects against complement C5b-9 attack, in human atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis*, 96(2-3): 135-45.
66. Hill, J.H., P.A. Ward. (1971) The phlogistic role of C3 leukotactic fragments in myocardial infarcts of rats. *J Exp Med*, 133(4): 885-900.
67. Pinckard, R.N., R.A. O'Rourke, M.H. Crawford, F.S. Grover, L.M. McManus, J.J. Ghidoni, S.B. Storrs, M.S. Olson. (1980) Complement localization and mediation of ischemic injury in baboon myocardium. *J Clin Invest*, 66(5): 1050-6.
68. Muscari, A., C. Bozzoli, C. Gerratana, F. Zaca', C. Rovinetti, D. Zauli, M. La Placa, P. Puddu. (1988) Association of serum IgA and C4 with severe atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 74(1-2): 179-86.
69. Muscari, A., C. Bozzoli, G.M. Puddu, C. Rovinetti, G.P. Fiorentini, R.A. Roversi, P. Puddu. (1990) Correlations between serum lipids and complement components in adults without demonstrated atherosclerotic disease. *Atherosclerosis*, 81(2): 111-8.
70. Muscari, A., C. Bozzoli, G.M. Puddu, Z. Sangiorgi, A. Dormi, C. Rovinetti, G.C. Descovich, P. Puddu. (1995) Association of serum C3 levels with the risk of myocardial infarction. *Am J Med*, 98(4): 357-64.
71. Széplaki, G., Z. Prohászka, J. Duba, S. Rugonfalvi-Kiss, I. Karádi, M. Kókai, J. Kramer, G. Füst, M. Kleiber, L. Romics, L. Varga. (2004) Association of high serum concentration of the third component of complement (C3) with pre-existing severe coronary artery disease and new vascular events in women. *Atherosclerosis*, 177(2): 383-9.
72. Engström, G., B. Hedblad, L. Janzon, F. Lindgärde. (2007) Complement C3 and C4 in plasma and incidence of myocardial infarction and stroke: a population-based cohort study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 14(3): 392-7.
73. Muscari, A., G. Massarelli, L. Bastagli, G. Poggiopollini, V. Tomassetti, U. Volta, G.M. Puddu, P. Puddu. (1998) Relationship between serum C3 levels and traditional risk factors for myocardial infarction. *Acta Cardiol*, 53(6): 345-54.

74. Muscari, A., M.C. Mele, L. Bastagli, G. Poggiopollini, V. Tomassetti, G. Drago, C. Legnani, A. Barini, O. Cappelletti, P. Boni, P. Puddu. (2001) Conditional risk factors in men with previous myocardial infarction: relevance of C3 and homocysteine. *Acta Cardiol*, 56(5): 303-11.
75. Oksjoki, R., P.T. Kovanen, M.O. Pentikäinen. (2003) Role of complement activation in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 14(5): 477-82.
76. Lindberg, S., S.H. Pedersen, R. Mogelvang, S. Galatius, A. Flyvbjerg, J.S. Jensen, M. Bjerre. (2012) Soluble form of membrane attack complex independently predicts mortality and cardiovascular events in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *Am Heart J*, 164(5): 786-92.
77. Hertle, E., C.D. Stehouwer, M.M. van Greevenbroek. (2014) The complement system in human cardiometabolic disease. *Mol Immunol*, 61(2): 135-48.
78. Distelmaier, K., C. Adlbrecht, J. Jakowitsch, S. Winkler, D. Dunkler, C. Gerner, O. Wagner, I.M. Lang, M. Kubicek. (2009) Local complement activation triggers neutrophil recruitment to the site of thrombus formation in acute myocardial infarction. *Thromb Haemost*, 102(3): 564-72.
79. Iltumur, K., A. Karabulut, G. Toprak, N. Toprak. (2005) Complement activation in acute coronary syndromes. *APMIS*, 113(3): 167-74.
80. Speidl, W.S., K.M. Katsaros, S.P. Kastl, G. Zorn, K. Huber, G. Maurer, J. Wojta, G. Christ. (2010) Coronary late lumen loss of drug eluting stents is associated with increased serum levels of the complement components C3a and C5a. *Atherosclerosis*, 208(1): 285-9.
81. Prohászka, Z., L. Munthe-Fog, T. Ueland, T. Gombos, A. Yndestad, Z. Föhrécz, M.O. Skjoedt, Z. Pozsonyi, A. Gustavsen, L. Jánoskúti, I. Karádi, L. Gullestad, C.P. Dahl, E.T. Askevold, G. Füst, P. Aukrust, T.E. Mollnes, P. Garred. (2013) Association of ficolin-3 with severity and outcome of chronic heart failure. *PLoS One*, 8(4): e60976.
82. Vengen, I.T., H.O. Madsen, P. Garred, C. Platou, L. Vatten, V. Videm. (2012) Mannose-binding lectin deficiency is associated with myocardial infarction: the HUNT2 study in Norway. *PLoS One*, 7(7): e42113.

83. Zhang, M., Y.J. Hou, E. Cavusoglu, D.C. Lee, R. Steffensen, L. Yang, D. Bashari, J. Villamil, M. Moussa, G. Fernaine, J.C. Jensenius, J.D. Marmur, W. Ko, K. Shevde. (2013) MASP-2 activation is involved in ischemia-related necrotic myocardial injury in humans. *Int J Cardiol*, 166(2): 499-504.
84. Széplaki, G., K. Hirschberg, T. Gombos, L. Varga, Z. Prohászka, E. Dósa, G. Acsády, I. Karádi, P. Garred, L. Entz, G. Füst. (2008) Early complement activation follows eversion carotid endarterectomy and correlates with the time of clamping of the carotid artery. *Mol Immunol*, 45(11): 3289-94.
85. Groeneveld, A.B., P.G. Raijmakers, J.A. Rauwerda, C.E. Hack. (1997) The inflammatory response to vascular surgery-associated ischaemia and reperfusion in man: effect on postoperative pulmonary function. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 14(5): 351-9.
86. Fiane, A.E., V. Videm, P.S. Lingaas, L. Heggelund, E.W. Nielsen, O.R. Geiran, M. Fung, T.E. Mollnes. (2003) Mechanism of complement activation and its role in the inflammatory response after thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Circulation*, 108(7): 849-56.
87. Munthe-Fog, L., T. Hummelshoj, B.E. Hansen, C. Koch, H.O. Madsen, K. Skjodt, P. Garred. (2007) The impact of FCN2 polymorphisms and haplotypes on the Ficolin-2 serum levels. *Scand J Immunol*, 65(4): 383-92.
88. Munthe-Fog, L., T. Hummelshoj, Y.J. Ma, B.E. Hansen, C. Koch, H.O. Madsen, K. Skjodt, P. Garred. (2008) Characterization of a polymorphism in the coding sequence of FCN3 resulting in a Ficolin-3 (Hakata antigen) deficiency state. *Mol Immunol*, 45(9): 2660-6.
89. Csuka, D., L. Munthe-Fog, M.O. Skjoedt, E. Hein, J.T. Bay, L. Varga, G. Füst, P. Garred. (2013) A novel assay to quantitate MASP-2/ficolin-3 complexes in serum. *J Immunol Methods*, 387(1-2): 237-44.
90. Hein, E., C. Honore, M.O. Skjoedt, L. Munthe-Fog, T. Hummelshoj, P. Garred. (2010) Functional analysis of Ficolin-3 mediated complement activation. *PLoS One*, 5(11): e15443.
91. Libby, P. (2002) Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420(6917): 868-74.
92. Oksjoki, R., P.T. Kovanen, M.I. Mäyränpää, P. Laine, A.M. Blom, S. Meri, M.O. Pentikäinen. (2007) Complement regulation in human atherosclerotic

- coronary lesions. Immunohistochemical evidence that C4b-binding protein negatively regulates the classical complement pathway, and that C5b-9 is formed via the alternative complement pathway. *Atherosclerosis*, 192(1): 40-8.
93. Hugo, F., T. Hamdoch, D. Mathey, H. Schäfer, S. Bhakdi. (1990) Quantitative measurement of SC5b-9 and C5b-9(m) in infarcted areas of human myocardium. *Clin Exp Immunol*, 81(1): 132-6.
  94. Seifert, P.S., F. Hugo, G.K. Hansson, S. Bhakdi. (1989) Prelesional complement activation in experimental atherosclerosis. Terminal C5b-9 complement deposition coincides with cholesterol accumulation in the aortic intima of hypercholesterolemic rabbits. *Lab Invest*, 60(6): 747-54.
  95. Vlaicu, R., H.G. Rus, F. Niculescu, A. Cristea. (1985) Immunoglobulins and complement components in human aortic atherosclerotic intima. *Atherosclerosis*, 55(1): 35-50.
  96. Seifert, P.S., G.K. Hansson. (1989) Complement receptors and regulatory proteins in human atherosclerotic lesions. *Arteriosclerosis*, 9(6): 802-11.
  97. Hein, E., C. Honoré, M.O. Skjoedt, L. Munthe-Fog, T. Hummelshøj, P. Garred. (2010) Functional analysis of Ficolin-3 mediated complement activation. *PLoS One*, 5(11): e15443.
  98. Ajjan, R., P.J. Grant, T.S. Futers, J.M. Brown, C.M. Cymbalista, M. Boothby, A.M. Carter. (2005) Complement C3 and C-reactive protein levels in patients with stable coronary artery disease. *Thromb Haemost*, 94(5): 1048-53.
  99. Palikhe, A., J. Sinisalo, M. Seppänen, H. Haario, S. Meri, V. Valtonen, M.S. Nieminen, M.L. Lokki. (2007) Serum complement C3/C4 ratio, a novel marker for recurrent cardiovascular events. *Am J Cardiol*, 99(7): 890-5.
  100. Jenei, Z.M., E. Zima, D. Csuka, L. Munthe-Fog, E. Hein, G. Széplaki, D. Becker, I. Karádi, Z. Prohászka, P. Garred, B. Merkely. (2014) Complement activation and its prognostic role in post-cardiac arrest patients. *Scand J Immunol*, 79(6): 404-9.
  101. Speidl, W.S., M. Exner, J. Amighi, S.P. Kastl, G. Zorn, G. Maurer, O. Wagner, K. Huber, E. Minar, J. Wojta, M. Schillinger. (2005) Complement component C5a predicts future cardiovascular events in patients with advanced atherosclerosis. *Eur Heart J*, 26(21): 2294-9.



102. White, C.J., W.A. Gray. (2007) Endovascular therapies for peripheral arterial disease: an evidence-based review. *Circulation*, 116(19): 2203-15.
103. Padfield, G.J., D.E. Newby, N.L. Mills. (2010) Understanding the role of endothelial progenitor cells in percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol*, 55(15): 1553-65.
104. Aström-Olsson, K., E. Hedström, L.M. Hultén, O. Wiklund, H. Arheden, A.K. Ohlin, A. Gottsäter, H. Ohlin. (2007) Dissociation of the Inflammatory Reaction following PCI for Acute Myocardial Infarction. *J Invasive Cardiol*, 19(11): 452-6.
105. Rebeiz, A.G., E. Zoghbi, R. Harb, S. Youhanna, H.N. Skouri, A. Dimassi, G. Abou-Nader, A. Nasrallah, J. Sawaya, W. Gharzuddine, S. Alam. (2009) Comparison of the systemic levels of inflammatory markers after percutaneous coronary intervention with bare metal versus sirolimus-eluting stents. *J Interv Cardiol*, 22(2): 169-74.
106. Almagor, M., A. Keren, S. Banai. (2003) Increased C-reactive protein level after coronary stent implantation in patients with stable coronary artery disease. *Am Heart J*, 145(2): 248-53.
107. Aggarwal, A., D.J. Schneider, E.F. Terrien, K.E. Gilbert, H.L. Dauerman. (2003) Increase in interleukin-6 in the first hour after coronary stenting: an early marker of the inflammatory response. *J Thromb Thrombolysis*, 15(1): 25-31.
108. Boos, C.J., B. Balakrishnan, S. Jessani, A.D. Blann, G.Y. Lip. (2007) Effects of percutaneous coronary intervention on peripheral venous blood circulating endothelial cells and plasma indices of endothelial damage/dysfunction. *Chest*, 132(6): 1920-6.
109. Bonello, L., A. Basire, F. Sabatier, F. Paganelli, F. Dignat-George. (2006) Endothelial injury induced by coronary angioplasty triggers mobilization of endothelial progenitor cells in patients with stable coronary artery disease. *J Thromb Haemost*, 4(5): 979-81.
110. Munk, P.S., U.M. Breland, P. Aukrust, O. Skadberg, T. Ueland, A.I. Larsen. (2011) Inflammatory response to percutaneous coronary intervention in stable coronary artery disease. *J Thromb Thrombolysis*, 31(1): 92-8.

111. Kowalski, J., M. Kośmider, L. Pawlicki, E. Głowacka, M. Banasik, Z. Baj, J. Cieciewicz, J. Paśnik. (1997) Complement activates neutrophils during PTCA procedure in patients with unstable angina pectoris. *Int J Cardiol*, 58(3): 229-40.
112. Pasqui, A.L., M. Di Renzo, G. Bova, F. Bruni, M. Saletti, C. Chiarion, A. Auteri. (1995) Changes of some immune functions after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA). *Int J Clin Pharmacol Res*, 15(4): 139-44.
113. Hognestad, A., K. Endresen, R. Wergeland, J.R. Mellembakken, T.E. Mollnes, T. Omland, J.K. Kjekshus, P. Aukrust, A.K. Andreassen. (2005) Inflammatory response and re-stenosis after percutaneous coronary intervention in heart transplant recipients and patients with native atherosclerosis. *J Heart Lung Transplant*, 24(8): 1026-32.
114. Deftereos, S., G. Giannopoulos, C. Kossyvakis, K. Raisakis, A. Kaoukis, M. Driva, O. Ntzouvara, V. Panagopoulou, I. Rentoukas, D.J. Nikas, V. Pyrgakis, M.A. Alpert. (2009) Effect of radiographic contrast media on markers of complement activation and apoptosis in patients with chronic coronary artery disease undergoing coronary angiography. *J Invasive Cardiol*, 21(9): 473-7.
115. Abdelmeguid, A.E., S.G. Ellis, S.K. Sapp, P.L. Whitlow, E.J. Topol. (1996) Defining the appropriate threshold of creatine kinase elevation after percutaneous coronary interventions. *Am Heart J*, 131(6): 1097-105.
116. Abdelmeguid, A.E., E.J. Topol, P.L. Whitlow, S.K. Sapp, S.G. Ellis. (1996) Significance of mild transient release of creatine kinase-MB fraction after percutaneous coronary interventions. *Circulation*, 94(7): 1528-36.
117. Kugelmas, A.D., D.J. Cohen, M. Moscucci, R.N. Piana, C. Senerchia, R.E. Kuntz, D.S. Baim. (1994) Elevation of the creatine kinase myocardial isoform following otherwise successful directional coronary atherectomy and stenting. *Am J Cardiol*, 74(8): 748-54.
118. Saucedo, J.F., R. Mehran, G. Dangas, M.K. Hong, A. Lansky, K.M. Kent, L.F. Satler, A.D. Pichard, G.W. Stone, M.B. Leon. (2000) Long-term clinical events following creatine kinase--myocardial band isoenzyme elevation after successful coronary stenting. *J Am Coll Cardiol*, 35(5): 1134-41.

119. Bennett, W.R., D.H. Yawn, P.J. Migliore, J.B. Young, C.M. Pratt, A.E. Raizner, R. Roberts, R. Bolli. (1987) Activation of the complement system by recombinant tissue plasminogen activator. *J Am Coll Cardiol*, 10(3): 627-32.
120. Kagiya, A., H.E. Savage, L.H. Michael, G. Hanson, M.L. Entman, R.D. Rossen. (1989) Molecular basis of complement activation in ischemic myocardium: identification of specific molecules of mitochondrial origin that bind human C1q and fix complement. *Circ Res*, 64(3): 607-15.
121. Lagrand, W.K., H.W. Niessen, G.J. Wolbink, L.H. Jaspars, C.A. Visser, F.W. Verheugt, C.J. Meijer, C.E. Hack. (1997) C-reactive protein colocalizes with complement in human hearts during acute myocardial infarction. *Circulation*, 95(1): 97-103.
122. Nijmeijer, R., W.K. Lagrand, Y.T. Lubbers, C.A. Visser, C.J. Meijer, H.W. Niessen, C.E. Hack. (2003) C-reactive protein activates complement in infarcted human myocardium. *Am J Pathol*, 163(1): 269-75.
123. Collard, C.D., A. Väkevä, M.A. Morrissey, A. Agah, S.A. Rollins, W.R. Reenstra, J.A. Buras, S. Meri, G.L. Stahl. (2000) Complement activation after oxidative stress: role of the lectin complement pathway. *Am J Pathol*, 156(5): 1549-56.
124. Amsterdam, E.A., G.L. Stahl, H.L. Pan, S.V. Rendig, M.P. Fletcher, J.C. Longhurst. (1995) Limitation of reperfusion injury by a monoclonal antibody to C5a during myocardial infarction in pigs. *Am J Physiol*, 268(1 Pt 2): H448-57.
125. Kishida, K., Y. Nakagawa, H. Kobayashi, T. Mazaki, H. Yokoi, K. Yanagi, T. Funahashi, I. Shimomura. (2014) High serum C1q-binding adiponectin levels in male patients with acute coronary syndrome. *Cardiovasc Diabetol*, 13: 9.
126. Mathey, D., J. Schofer, H.J. Schäfer, T. Hamdoch, H.C. Joachim, A. Ritgen, F. Hugo, S. Bhakdi. (1994) Early accumulation of the terminal complement-complex in the ischaemic myocardium after reperfusion. *Eur Heart J*, 15(3): 418-23.
127. Foreman, K.E., A.A. Vaporciyan, B.K. Bonish, M.L. Jones, K.J. Johnson, M.M. Glovsky, S.M. Eddy, P.A. Ward. (1994) C5a-induced expression of P-selectin in endothelial cells. *J Clin Invest*, 94(3): 1147-55.

128. Chauhan, A., P.A. Mullins, G. Taylor, M.C. Petch, P.M. Schofield. (1997) Both endothelium-dependent and endothelium-independent function is impaired in patients with angina pectoris and normal coronary angiograms. *Eur Heart J*, 18(1): 60-8.
129. Buffon, A., S. Rigattieri, S.A. Santini, V. Ramazzotti, F. Crea, B. Giardina, A. Maseri. (2000) Myocardial ischemia-reperfusion damage after pacing-induced tachycardia in patients with cardiac syndrome X. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 279(6): H2627-33.
130. Maseri, A., F. Crea, J.C. Kaski, T. Crake. (1991) Mechanisms of angina pectoris in syndrome X. *J Am Coll Cardiol*, 17(2): 499-506.
131. Torzewski, M., S. Bhakdi. (2013) Complement and atherosclerosis-united to the point of no return? *Clin Biochem*, 46(1-2): 20-5.
132. Xiao, X., B. Ma, B. Dong, P. Zhao, N. Tai, L. Chen, F.S. Wong, L. Wen. (2009) Cellular and humoral immune responses in the early stages of diabetic nephropathy in NOD mice. *J Autoimmun*, 32(2): 85-93.
133. Zhang, J., C. Gerhardinger, M. Lorenzi. (2002) Early complement activation and decreased levels of glycosylphosphatidylinositol-anchored complement inhibitors in human and experimental diabetic retinopathy. *Diabetes*, 51(12): 3499-504.
134. Gerl, V.B., J. Bohl, S. Pitz, B. Stoffelns, N. Pfeiffer, S. Bhakdi. (2002) Extensive deposits of complement C3d and C5b-9 in the choriocapillaris of eyes of patients with diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 43(4): 1104-8.
135. Rosoklija, G.B., A.J. Dwork, D.S. Younger, G. Karlikaya, N. Latov, A.P. Hays. (2000) Local activation of the complement system in endoneurial microvessels of diabetic neuropathy. *Acta Neuropathol*, 99(1): 55-62.
136. Krarup, A., S. Thiel, A. Hansen, T. Fujita, J.C. Jensenius. (2004) L-ficolin is a pattern recognition molecule specific for acetyl groups. *J Biol Chem*, 279(46): 47513-9.
137. Faro, J., Y. Chen, P. Jhaveri, P. Oza, G.T. Spear, T.F. Lint, H. Gewurz. (2008) L-ficolin binding and lectin pathway activation by acetylated low-density lipoprotein. *Clin Exp Immunol*, 151(2): 275-83.

138. Ma, Y.G., M.Y. Cho, M. Zhao, J.W. Park, M. Matsushita, T. Fujita, B.L. Lee. (2004) Human mannose-binding lectin and L-ficolin function as specific pattern recognition proteins in the lectin activation pathway of complement. *J Biol Chem*, 279(24): 25307-12.
139. Matsushita, M. (2013) Ficolins in complement activation. *Mol Immunol*, 55(1): 22-6.

## 9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

### ▪ A dolgozathoz közvetlenül kapcsolódó publikációk:

Horváth Z, Csuka D, Vargova K, Leé S, Varga L, Garred P, Préda I, Zsámboki ET, Prohászka Z, Kiss RG. (2016) Association of low ficolin-lectin pathway parameters with Cardiac Syndrome X. Scand J Immunol, 84(3):174-81.

Horváth Z, Csuka D, Vargova K, Kovács A, Molnár A, Gulácsi-Bárdos P, Leé S, Varga L, Kiss RG, Préda I, Füst G. (2013) Elevated C1rC1sC1inh levels independently predict atherosclerotic coronary heart disease. Mol Immunol, 54(1):8-13.

### ▪ A dolgozathoz közvetlenül nem kapcsolódó publikációk:

Lee S, Hizoh I, Kovacs A, Horvath Z, Kiss N, Toth-Zsamboki E, Kiss RG. (2015) Predictors of high on-clopidogrel platelet reactivity in patients with acute coronary syndrome. Platelets, 27(2):159-167.

Leé S, Vargová K, Hizoh I, Horváth Z, Gulácsi-Bárdos P, Sztupinszki Z, Apró A, Kovács A, Préda I, Tóth-Zsámboki E, Kiss RG. (2014) High on clopidogrel treatment platelet reactivity is frequent in acute and rare in elective stenting and can be functionally overcome by switch of therapy. Thromb Res, 133(2):257-264.

Vargová K, Pállinger É, Horváth Zs, Kovács A, Leé S, Gulácsi-Bárdos P, Falus A, Kiss RG, Préda I. (2012) A mikrovezikulumok szerepe cardiovascularis kórképekben. Orvosképzés, 2:55-60.

Kis E, Cseprekál O, Horváth Z, Katona G, Fekete BC, Hrapka E, Szabó A, Szabó AJ, Fekete A, Reusz GS. (2008) Pulse wave velocity in end-stage renal disease: influence of age and body dimensions. PEDIATR Res, 63(1):95-8.

## 10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom témavezetőmnek, Professor Dr. Kiss Róbert Gábornak, aki lehetővé tette, hogy PhD hallgatóként részt vehessek az újonnan induló kutatási munkában. Köszönöm, hogy a klinikum mellett is támogatott, és lehetővé tette, hogy ezt a dolgot nyugodt körülmények között befejezhessem.

Hálás köszönettel tartozom Préda István Professor Úrnak, aki folyamatos biztatásával, szakmai segítségével és támogatásával kísért végig ezen az izgalmas perióduson.

Köszönöm Dr. Tóth Zsámboki Emese adjunktus asszony segítségét, támogatását és opimista biztatását.

Köszönettel tartozom a Semmelweis Egyetem III. Belgyógyászati Klinika Kutatólaboratórium korábbi vezetőjének, Füst György Professor Úrnak, aki nélkül a vizsgálatok nem kezdődhetek volna el. Sajnálatos módon az első publikációt már nem érthette meg. Ezen dolgozattal is szeretném végtelen hálámat és köszönetemet kifejezni.

Szeretném megköszönni Prohászka Zoltán Professor Úr segítségét, útmutatását és támogatását, továbbá azt, hogy lehetőséget adott nemzetközi kapcsolataim keresztül is feldolgozni az általunk gyűjtött mintákat.

A dolgozat nem jöhetett volna létre Dr. Csuka Dorottya szerzőtársam segítségével és munkája nélkül. Köszönöm a méréseket, a kéziratokban nyújtott segítséget és a folyamatos támogatást.

A kutatólaborban eltöltött közel 6 év legfontosabb hozománya számomra az a barátság, ami átsegített a legnehezebb időszakokon is. Kovács Andrea, Dr. Leé Sarolta és Dr. Vargova Kataraina: köszönöm a rengeteg segítséget, biztatást, a sok közös nevetést, programot és élményt. Nélkületek ez biztosan nem jöhetett volna létre! Fantasztikus időszak volt, amit soha nem fogok elfelejteni.

Végül, de nem utolsósorban köszönöm szüleim, testvéreim és férjem támogatását, akik soha nem szűnő lelkesedéssel biztattak és mindig hittek bennem! Ők már az elején biztosan tudták, amiben én csak reménykedni tudtam: hogy egyszer elkészül ez a dolgozat.