

# **EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**A thrombocyta aktivációs markerek és adipokinek  
atherosclerosisal való összefüggéseinek vizsgálata elhízásban**

**Dr. Csongrádi Éva**

**Témavezető:**

**Prof. Dr. Paragh György**

**Prof. Dr. Kappelmayer János**



**Debreceni Egyetem**

**Egészségtudományok Doktori Iskola**

**Debrecen, 2017**

**A thrombocyta aktivációs markerek és adipokinek atherosclerosisral való  
összefüggéseinek vizsgálata elhízásban**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
az Egészségtudományok tudományágban

Írta: Dr. Csongrádi Éva okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Egészségtudományok Doktori Iskolája  
(Az Anyagcsere és Endokrin Betegségek Megelőzése és Kontrollja program) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Paragh György, az MTA doktora  
Prof. Dr. Kappelmayer János, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Ádány Róza, az MTA doktora  
tagok: Prof. Dr. Bereczki Dániel, az MTA doktora  
Dr. Fülöp Tibor, PhD

A doktori szigorlat időpontja és helyszíne:

2017. július 4. 11:00 óra, Debreceni Egyetem, Népegészségügyi Kar, Megelőző  
Orvostani Intézet Tárgyalóterme

Az értekezés bírálói: Prof. Dr. Ilyés István, kandidátus  
Prof. Dr. Vásárhelyi Barna, az MTA doktora

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Ádány Róza, az MTA doktora  
tagok: Prof. Dr. Bereczki Dániel, az MTA doktora  
Prof. Dr. Ilyés István, kandidátus  
Prof. Dr. Vásárhelyi Barna, az MTA doktora  
Dr. Fülöp Tibor, PhD

Az értekezés védésének helyszíne és időpontja:

2017. július 4. 13:00 óra, Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet „A” épület  
Tanterme

# 1. BEVEZETÉS

Világszerte a vezető halálokokat az atherosclerotikus szív-és érrendszeri betegségek jelentik. A kardiovaszkuláris események kritikus komponense, az atherothrombosis, az atherosclerosis akut krízise. Az érlelmeszedés fontos befolyásolható kockázati tényezője a magas vérnyomás, a 2-es típusú cukorbetegség, a dyslipidaemia és dohányzás mellett az elhízás. Az obezitás világméretű epidémiája, következményeinek súlyossága és hatékony kezelésének hiánya miatt világszerte az egyik legnagyobb népegészségügyi problémává vált. Az obezitás gyakran társul atherosclerosisra hajlamosító társbetegségekkel: hypertoniával és/vagy 2-es típusú diabetes mellitussal és/vagy dyslipidaemiával. Ugyanakkor fontos kiemelni, hogy az elhízott egyének közel egyharmada nem szenved atherosclerotikus társbetegségben.

Az atherosclerotikus kardio- és cerebrovaszkuláris betegségekben, valamint az atherosclerosisra hajlamosító kórképekben: hypertoniában, 2-es típusú diabetes mellitusban és dyslipidaemiában, a fokozott thrombocytá aktiváció emelkedett felszíni és szolubilis P-szelektin szintekkel és thrombocytá eredetű mikropartikula (MP) számmal jól demonstrált. Ugyanakkor elhízásban, az értekezésben bemutatott vizsgálatot megelőzően csak kis betegszámú obez csoportokban történtek vérelemzke aktivációs marker szint meghatározások, részben ellentmondásos eredményekkel. A P-szelektin Thr715Pro polimorfizmus szerint a szolubilis P-szelektin szint egészséges egyénekben változik; az alacsonyabb szinttel járó homo-és heterozigóta formáknak irodalmi adatok alapján védő hatása feltételezhető az atherosclerotikus folyamatokat illetően. A P-szelektin Thr715Pro polimorfizmus szolubilis P-szelektin szintre való hatását obez populációban korábban nem vizsgálták. Továbbá, elhízott egyénekben a thrombocytá aktivációs markerek vaszkuláris rizikófaktorokkal, prothrombotikus paraméterekkel és arteria carotis communis intima-media vastagsággal (carotis IMT), mint a szubklinikus atherosclerosis markerével való kapcsolatai lényeges vonatkozásokban feltáratlanok maradtak.

Abdominális obezitásban a zsírszövet morfológiai átalakuláson megy keresztül, károsodik a funkciója, amely megváltozott adipokin szekréciós profilhoz vezet; ez a klasszikus adipokinek tekintetében emelkedett leptin, rezisztin, TNF- $\alpha$ , IL-6 és csökkent adiponektin szintet jelent. Dinamikusan növekszik az obezitást jellemző megváltozott adipokin plazma szintek atherosclerotikus vaszkuláris betegségek pathomechanizmusában betöltött jelentős szerepét alátámasztó evidenciák száma. Amíg az adipokinek viscerális obezitást jellemző alacsony fokozatú krónikus gyulladással, az elhízáshoz gyakran társuló hypertoniával, anyagcsere-eltérésekkel: hyperglycaemiával, dyslipidaemiával, mint

tradicionális vaszkuláris rizikófaktorokkal való összefüggései jól ismertek, elfogadottak; addig az atherosclerotikus, atherothrombotikus folyamatok meghatározó tényezői közé tartozó thrombocytá aktivációs markerekkel való kapcsolatuk elhízott egyéneknél eddig nem vizsgált, a hyperkoaguláció és hypofibrinolízis markereivel való összefüggéseik pedig nem kellően feltártak. Jelentősége ellenére obez betegekben a klasszikus adipokinek arteria carotis falvastagsággal való kapcsolatának lényeges vonatkozásai ez idáig nem kerültek tisztázásra.

A fenti szempontok figyelembevételével, munkánk során elhízott egyéneknél, a vérlemezke aktiváció és a megváltozott adipokin profil elemzésével, az atherosclerosis meghatározó tényezőivel való eddig ismeretlen vagy nem kellően tisztázott kapcsolataik vizsgálatával, az elhízást jellemző akcelerált atherosclerosis és fokozott kardiovaszkuláris rizikó szempontjából potenciális jelentőséggel bíró tényezők és összefüggések feltárására törekedtünk.

## **2. CÉLKITŰZÉSEK**

### **A thrombocytá hyperaktiváció atherosclerosisissal való összefüggéseinek vizsgálata elhízásban.**

Munkánk első részében célunk volt egy relatíve nagy betegszámú obez csoportban és atherosclerosisra hajlamosító társbetegségek szerinti alcsoportjaiban a thrombocytá hyperaktivitás markereinek vizsgálata, atherosclerosisissal való összefüggéseik elemzése. Ezen vizsgálatok során az alábbi konkrét célkitűzéseket fogalmaztuk meg:

- A thrombocytá aktiváció vizsgálata a thrombocytá felszíni P-szelektin expresszió és szolubilis P-szelektin szint, valamint a vérlemezke-eredetű mikropartikulák számának meghatározásával a teljes obez kohortban, az atherosclerotikus társbetegség nélküli és az atherosclerotikus társbetegségben is szenvedő obez alcsoportokban, valamint az egészséges kontrollokban.
- A P-szelektin Thr 715 Pro polimorfizmus szolubilis P-szelektin plazma szintekre való hatásának vizsgálata obez és kontroll populációban.
- A thrombocytá aktivációs paraméterek vaszkuláris kockázati tényezőkkel és a koaguláció prothrombotikus eltéréseinek markereivel való összefüggéseinek elemzése.
- A vérlemezke aktivációs markerekkel független összefüggést mutató vaszkuláris rizikófaktorok, prothrombotikus tényezők meghatározása.
- A thrombocytá hyperaktivitás markerei és a carotis IMT közötti kapcsolatok vizsgálata.

## **Az adipokinek atherosclerosisral való kapcsolatainak elemzése elhízásban**

Munkánk második felében az elhízást jellemző megváltozott adipokin plazma szintek és az atherosclerosis pathomechanizmusában jelentős szerepet betöltő tényezők közötti, eddig nem vizsgált vagy nem kellően felderített összefüggések megismerésére törekedtünk. Ezen elemzések során a következő kérdésekre kerestük a választ:

- Befolyásolja-e a klasszikus adipokinek: leptin, adiponektin, rezisztin, TNF- $\alpha$  és IL-6 plazma szintjeit az atherosclerosisra hajlamosító társbetegségek jelenléte obez egyéneknél.
- Az adipokinek hemosztatikus paraméterekkel, különös tekintettel a thrombocytá aktivációs markerekkel való összefüggéseinek vizsgálata.
- Az adipokin szintekkel független összefüggést mutató hemosztatikus paraméterek meghatározása.
- Az adipokin plazma szintek arteria carotis falvastagsággal való kapcsolatainak elemzése.
- A carotis IMT független prediktorait jelentő adipokinek és hemosztatikus paraméterek feltárása.

## **3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK**

### **3.1. Az obez és kontroll vizsgálati populációk**

Vizsgálatunkba 154 elhízott egyén került bevonásra (életkor:  $40,6 \pm 11,1$  év; 95 nő és 59 férfi; BMI:  $38,2 \pm 7,72$  kg/m<sup>2</sup>) a Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézetének Obezitás szakrendeléséről. Az életkor és nem szerint illesztett kontroll csoportot 62 normál testtömeg-indexű, egészséges, önkéntes egészségügyi dolgozó képezte (életkor:  $39,7 \pm 10,0$  év; 41 nő és 21 férfi, BMI:  $22,1 \pm 1,96$  kg/m<sup>2</sup>). Az obez csoport életkor, nem és BMI szerint illesztett, atherosclerotikus társbetegségek szerinti két alcsoportból állt: az 56 társbetegség nélküli elhízott egyént magába foglaló alcsoportból és a 98 atherosclerotikus társbetegségben (hypertoniában és/vagy 2-es típusú cukorbetegségben és/vagy dyslipidaemiában) is szenvedő elhízott betegből álló alcsoportból. A BMI értéket a kilogrammban mért testtömeg és a méterben mért testmagasság négyzetének hányadosaként (kg/m<sup>2</sup>) határoztuk meg. Az obez csoportba a BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> egyének kerültek. Az atherosclerotikus társbetegségben szenvedő obez csoportban 47 rendszeresen dohányzó személy volt. A károsodott máj és vesefunkció, daganatos betegség, fertőző betegség, súlyos szimptomatikus kardiovaszkuláris betegség

(aktív angina, intermittáló klaudikáció, átmeneti iszkémiás attack), terhesség, alkohol-, és/vagy drogfüggőség a vizsgálat kizárási kritériumai voltak. A vizsgálatba történő bevonás időpontjában a vizsgálati résztvevők részletes tájékoztatást követően írásbeli beleegyezési nyilatkozatot írtak alá. A vizsgálatot a Helsinki Deklaráció szerint és a Debreceni Egyetem Kutatásetikai Bizottságának engedélyével végeztük.

### **3.2. Laboratóriumi vizsgálatok**

A laboratóriumi vizsgálatok a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében és a Belgyógyászati Intézet Kutató Laboratóriumában kerültek kivitelezésre nemzetközileg elfogadott validált és standardizált módszerekkel.

#### **3.2.1. Mintavétel és előkészítés**

A vizsgálati résztvevőktől éhomi, vénás vérvétel történt vacutainer technikával. A kémiai, immunkémiai paraméterek vizsgálatát natív vérminta centrifugálása után nyert szérumból végeztük a mintavétel napján. ELISA vizsgálatához a mintákat a mintavétel után 30 percen belül 2000 g-n 15 percig szobahőn lecentrifugáltuk, majd -70 °C-on tároltuk.

A thrombocytá felszíni P-szelektin expresszió áramlási citometriai méréséhez a teljes vérből 40 µl-t a mintavételt követő 2 órán belül 1 ml 1 %-os paraformaldehidben (PFA) lefixáltunk. Legalább 1 órás szobahőn történő fixálást követően 1300 g-n 15 percig szobahőn lecentrifugáltuk, majd a thrombocytá azonosítására szolgáló marker (CD42a) és a P-szelektin (CD62) jelölést követően 1 ml fiziológiás sóoldatot tartalmazó foszfát pufferben (PBS) mostuk, végül 0,5 ml PBS-ben újra szuszpendáltuk.

A thrombocytá eredetű mikropartikulák mennyiségének áramlási citometriai analíziséhez teljes vérből 1550 g-n 20 percig szobahőn történt centrifugálással thrombocytá szegény plazmát (PPP) készítettünk. A vérlemezke törmelék eltávolítása céljából 500 µl PPP-t 13 000 g-n 2 percig szobahőn centrifugáltunk. Végül, 16 100 g-n 30 percig szobahőn történt centrifugálást követően elkülönítettük a mikropartikulákat.

#### **3.2.2. Kémiai/immunkémiai és hematológiai laboratóriumi tesztek**

Az éhomi glükóz szérum koncentráció meghatározás Hitachi analizátoron hexokináz módszer alkalmazásával történt. Azoknál a vizsgálati résztvevőknél, akiknek a kórelőzményében nem szerepelt diabetes mellitus, annak kizárása céljából orális glükóz tolerancia tesztet végeztünk. A HbA1c meghatározás nagynyomású folyadékkromatográfiával történt. A szérum inzulin koncentrációt kereskedelmi forgalomban elérhető radioimmunoassay kittel mértük. A

homeostasis model assessment inzulinrezisztencia (HOMA-IR) értékét az éhomi inzulin koncentráció (mU/l) x éhomi glükóz koncentráció (mmol/l)/22,5 képlet alapján számítottuk ki. Az összkoleszterin, az LDL-C, a HDL-C és a triglicerid szérumban koncentrációt Hitachi analizátoron enzimatikus, kolorimetriás módszerrel mértük. A hsCRP meghatározást immunoturbidimetriás módszerrel, Integra 800 analizátoron végeztük. A plazma fibrinogén szintet Clauss módszerrel, STA Compact koagulométeren határoztuk meg, Reanal Fibrinogén kit alkalmazásával. A VIII-as faktor aktivitást az STA Compact koagulométeren mértük. A thrombocytaszám és MPV meghatározás Advia 120 Hematológiai automatán történt. A leptin, adiponektin, rezisztin, TNF- $\alpha$ , IL-6, szolubilis P-szelektin és PAI-1 antigén plazma koncentrációkat ELISA vizsgálattal, kereskedelmi forgalomban kapható kiték segítségével határoztuk meg, a gyártó által megadott útmutató szerint.

### **3.2.3. Áramlási citometriai analízis**

A thrombocyták azonosítására a thrombocytaszámhoz specifikus, GPIIb/IIIa receptor ellenes CD42a monoklonális antitestet használtuk. A thrombocytaszám felszíni P-szelektin (CD62) expresszió detektálása anti-CD62 monoklonális antitesttel történt. A fixált vérelemzskéket fikoeritrinnel jelölt CD62 és fluoreszcens izotiocianáttal jelölt CD42a monoklonális antitestekkel 20 percig sötétben szobahőn inkubáltuk. Izotípus kontrollként nem-immun típusú egér IgG1 antitestet használtunk. PBS-ben történő mosást követően került sor a P-szelektin expresszió %-os mértékének meghatározására. A méréseket FACSCalibur áramlási citométerrel, CellQuest 3,2 program segítségével, 10 000 GPIIb/IIIa pozitív sejt adatainak begyűjtésével végeztük.

A thrombocytaszám eredetű mikropartikulák mennyiségének meghatározásához standard méretű és gyöngyszámú TruCOUNT fluoreszcens gyöngykészítményt alkalmaztunk. Először a gyöngyököt tartalmazó csöveket mértük le, ezt követően azonos (30 másodperc) begyűjtési idő alatt a mikropartikulákat. A mikropartikulák számát a begyűjtött gyöngyök eseményszámához viszonyítva határoztuk meg. A mikropartikulákat az előre szórt (FSC) és oldalra szórt (SSC) fény paramétereinek alapján kapztuk be, majd CD42a pozitivitásuk alapján azonosítottuk.

### **3.2.4. P-szelektin Thr715Pro genotípus meghatározás**

A P-szelektin Thr 715Pro polimorfizmus detektálására, Na-citráttal alvadást gátló teljes vérből végzett DNS izolálást követően, polimeráz láncreakció-restríktív fragmenthossz polimorfizmus (PCR-RFLP) módszert alkalmaztunk. Primerként 5'-TTTCTGCAGCTGTGAAATGC-3' és 5'-ATTGTACCTTGGCAGGTTGG-3'

oligonukleotidokat használtunk. Az 50 µl-es reakcióelegy összetétele a következő volt: 100 ng DNS templát, 10 pmol primer, 200 µM dNTP, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 % DMSO és 2U Taq DNS polimeráz. A PCR során a kezdeti 94 °C-on 5 percig tartó denaturációt, egy 40 ciklusból álló amplifikáció követte: 94 °C-on 30 másodperc, 60 °C-on 60 másodperc és 72 °C-on 60 másodperc, majd 72 °C-on 10 percig a végső extenzió. A PCR termékeket (198 bázispár) Eco 91I restrikciós enzimmel emésztettük. A hasítási termékeket ethidium-bromiddal festett 3 %-os agaróz gélelektroforézissel szétválasztottuk és UV-fénnyel megvilágítva detektáltuk.

### **3.3. Arteria carotis communis intima-media vastagság mérés**

Az arteria carotis communis intima-media vastagság (IMT) meghatározás SONOS 4500 carotis duplex ultrahang készülékkel, 7,5 MHz-es lineáris ultrahang szondával történt a Debreceni Egyetem Neurológiai Klinika Ultrahang Laboratóriumában. Az IMT online mérését kétszeresére nagyított, kimerevített B-mód képeken, a carotis bulbustól proximálisan 10 mm-re, az ultrahang szonda medio-lateralis pozíciójában, a szondától távolabb eső érfalon, end-diaistoléban végeztük. A nemzetközi ajánlásoknak megfelelően az IMT-t a lumen-intima határvonal és a media-adventitia határvonal közötti távolságként definiáltuk. Mindkét oldali arteria carotis communis esetében három mérést végeztünk század mm pontossággal, melyek átlagértékét vettük figyelembe a statisztikai értékelés során.

### **3.4. Statisztikai módszerek**

A statisztikai számításokat a SAS<sup>TM</sup> for Windows<sup>TM</sup> 9.3 és SPSS (13. verzió) programcsomagok segítségével végeztük. A paramétereket leíró statisztikával jellemeztük (átlag, szórás, medián, kvartilisek), illetve a diszkrét változók esetén gyakorisággal. A normál eloszlás vizsgálatára Kolmogorov-Smirnov próbát végeztünk. A ferde eloszlású paraméterek esetén logaritmikus transzformációt alkalmaztunk. Az összehasonlító elemzéseket normális eloszlású folytonos változók esetén Student-féle t-próbával, illetve több csoport esetén varianciaanalízissel (ANOVA teszt) végeztük, Bonferroni, Tukey-Kramer és Newman-Keuls tesztekkel kiegészítve. A paraméterek összefüggését Spearman és Pearson korrelációval vizsgáltuk. A diszkrét paraméterek összefüggéseinek elemzésére  $\chi^2$ próbát alkalmaztunk. A rizikó/magyarázó tényezők hatását bizonyos függő változókra többszörös regressziós analízissel (backward-stepwise metodikával) vizsgáltuk. A statisztikai tesztek alkalmazása során a  $p \leq 0,05$  valószínűségi szintet tekintettük szignifikánsnak.

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. Thrombocyta aktiváció, hyperkoaguláció és hypofibrinolízis markereinek szintjei

A thrombocyta aktivációs markerek szintjei: a thrombocyta felszíni P-szelektin expresszió, a szolubilis P-szelektin plazma szint és a thrombocyta eredetű MP szám szignifikánsan magasabbak voltak az obez csoportban, mint a normál testsúlyú egészséges egyéneknél (felszíni P-szelektin: 1,30 (0,69-2,26) % vs. 0,72 (0,39-1,18) %,  $p < 0,0001$ ; szolubilis P-szelektin: 45,2 (38,7-58,0) ng/ml vs. 35,7 (25,1-45,9) ng/ml,  $p < 0,0001$ ; thrombocyta MP: 392 (234-715) n/μl vs. 165 (68-241) n/μl,  $p < 0,0001$ ). Az atherosclerotikus társbetegség nélküli és atherosclerotikus társbetegségben is szenvedő obez betegek nem mutattak szignifikáns különbséget a vérlemezke hyperaktivációs markerek tekintetében (felszíni P-szelektin: 1,18 (0,68-2,02) % vs. 1,43 (0,70-2,30) %,  $p = 0,671$ ; szolubilis P-szelektin: 44,3 (38,7-54,9) ng/ml vs. 48,0 (38,7-61,1) ng/ml,  $p = 0,551$ ; thrombocyta MP: 362,5 (236-614,5) n/μl vs. 407 (227-777) n/μl,  $p = 0,467$ ). A thrombocyta szám, az MPV, a fibrinogén szint, a VIII-as faktor aktivitás és PAI-1 antigén plazma szint ugyancsak szignifikánsan nagyobb volt az obez csoportokban a kontrollokhoz viszonyítva, és az atherosclerotikus társbetegségek szerinti obez alcsoportok között nem volt szignifikáns különbség ezen hemosztatikus paraméterek tekintetében.

### 4.2. P-szelektin Thr715Pro polimorfizmus hatása a szolubilis P-szelektin szintre

A P-szelektin Thr715Pro genotípusok (AA: Thr715Thr, AC: Thr715Pro, CC: Pro715Pro) gyakorisága hasonló volt az obez és kontroll csoportokban, obez betegekben: 76% AA (n=117), 22,7 % AC (n=35), 1,3 % CC (n=2), egészséges kontroll egyéneknél: 72,6 % AA (n=45), 27,4 % AC (n=17), ( $\chi^2$  teszt  $p > 0,05$ ). Az egészséges csoportban nem volt CC genotípusú személy és az obez csoportban is csak nagyon kis arányban fordult elő a homozigóta (CC) forma, ezért ezeket az egyéneket a heterozigóta (AC) genotípusúakkal együtt vettük figyelembe a statisztikai elemzések során. A normál testtömegű egészséges kontroll csoport heterozigóta egyedeinek szignifikánsan alacsonyabb volt a szolubilis P-szelektin szintje a vad (AA) genotípusúakhoz viszonyítva (25,1 (17,9-41,9) ng/ml vs. 36,6 (27,8-50,0) ng/ml,  $p = 0,023$ ). Az obez csoport heterozigóta/homozigóta és vad genotípusú betegeinek szolubilis P-szelektin szintje között nem igazolódott szignifikáns különbség (49,7 (40,7-62,3) ng/ml vs. 44,3 (38,5-55,1) ng/ml,  $p = 0,19$ ). Az atherosclerotikus társbetegség szerinti obez alcsoportokban szintén nem találtunk szignifikáns eltérést a

heterozigóta/homozigóta és vad genotípusú egyének szolubilis P-szelektin plazma szintje között.

### **4.3. Thrombocyta aktivációs markerek és vaszkuláris rizikófaktorok összefüggései**

A thrombocyta aktiváció szenzitív markerei és a vaszkuláris rizikófaktorok közötti összefüggések feltárását korrelációs analízis segítségével végeztük.

A thrombocyta felszíni P-szelektin expresszió erős szignifikáns ( $p \leq 0,01$ ), pozitív korrelációt mutatott a BMI-vel ( $r=0,25$ ), a szisztolés ( $r=0,26$ ) és diasztolés ( $r=0,26$ ) vérnyomás értékekkel, a HOMA-IR-rel ( $r=0,32$ ), a HbA1c-vel ( $r=0,20$ ), az éhomi glükóz ( $r=0,21$ ), az éhomi inzulin ( $r=0,28$ ), a triglicerid ( $r=0,26$ ), az összkoleszterin ( $r=0,26$ ) és PAI-1 antigén ( $r=0,30$ ) szintekkel. Szignifikáns ( $p \leq 0,05$ ) pozitív összefüggés igazolódott továbbá, a felszíni P-szelektin és haskőrfogat ( $r=0,18$ ), LDL-C szint ( $r=0,18$ ), hsCRP ( $r=0,18$ ) között. A HDL-C szinttel ugyanakkor a felszíni P-szelektin korrelációja szignifikáns ( $p \leq 0,05$ ), negatív volt ( $r=-0,16$ ) volt. A P-szelektin thrombocyta felszíni expressziója a fibrinogén szinttel és VIII-as faktor aktivitással nem mutatott szignifikáns összefüggést.

Vizsgálatunk szoros szignifikáns ( $p \leq 0,01$ ), pozitív kapcsolatot tárt fel a szolubilis P-szelektin plazma szint és a következő paraméterek között: BMI ( $r=0,25$ ), éhomi inzulin szint ( $r=0,27$ ), HOMA-IR ( $r=0,32$ ), triglicerid szint ( $r=0,23$ ), hs-CRP ( $r=0,23$ ), PAI-1 antigén szint ( $r=0,26$ ). A szolubilis P-szelektin szint ugyancsak erős szignifikáns ( $p \leq 0,01$ ), de negatív összefüggést mutatott a HDL-C szinttel ( $r=-0,23$ ). A szolubilis P-szelektin szignifikánsan ( $p \leq 0,05$ ), pozitívan korrelált a haskőrfogattal ( $r=0,16$ ), az LDL-C szinttel ( $r=0,17$ ) és a fibrinogén szinttel ( $r=0,15$ ). A vérnyomás értékekkel, az éhomi glükóz szinttel, a HbA1c-vel, az összkoleszterin szinttel és a VIII-as faktor aktivitással a szolubilis P-szelektin szint nem mutatott szignifikáns összefüggést.

A thrombocyta eredetű mikropartikula szám az összkoleszterin szint kivételével az összes vizsgált vaszkuláris rizikófaktorral szignifikánsan korrelált. Szoros szignifikáns ( $p \leq 0,01$ ), pozitív összefüggést igazoltunk a thrombocyta eredetű MP szám és a BMI ( $r=0,37$ ), haskőrfogat ( $r=0,39$ ), a diasztolés vérnyomás ( $r=0,23$ ), az éhomi glükóz szint ( $r=0,28$ ), HbA1c ( $r=0,22$ ), az éhomi inzulin szint ( $r=0,32$ ), a HOMA-IR ( $r=0,38$ ), a triglicerid szint ( $r=0,30$ ), a hs-CRP ( $r=0,37$ ), a fibrinogén szint ( $r=0,39$ ), valamint a PAI-1 antigén szint ( $r=0,48$ ) között. A thrombocyta MP szám továbbá szignifikánsan korrelált a szisztolés vérnyomás értékkel ( $r=0,17$ ), az LDL-C szinttel ( $r=0,15$ ) és a VIII-as faktor aktivitással ( $r=0,18$ ). Inverz szignifikáns ( $p \leq 0,01$ ) korrelációt mutattunk ki a thrombocyta MP szám és a HDL-C szint között ( $r=-0,20$ ).

### *A thrombocytá aktivációs paraméterek vaszkuláris rizikófaktorokkal való független összefüggései*

Többszörös regressziós analízist alkalmazva kerestük a thrombocytá aktivációs markerekkel, mint függő változókkal, független összefüggést mutató vaszkuláris rizikófaktorokat egy olyan modellben, amelyben független változóként a BMI, szisztolés vérnyomás, HOMA-IR, triglicerid, LDL-C, hs-CRP, fibrinogén, VIII-as faktor aktivitás és PAI-1 antigén szerepeltek. A vaszkuláris kockázati tényezők közül a thrombocytá felszíni P-szelektinnel a PAI-1 antigén ( $p=0,009$ ), a szolubilis P-szelektinnel a fibrinogén ( $p=0,007$ ), a thrombocytá eredetű MP számmal pedig a BMI ( $p<0,0001$ ) mutatott független szignifikáns összefüggést.

#### **4.4. Arteria carotis communis intima-media vastagság**

A carotis IMT szignifikánsan nagyobb volt az obez csoportban a kontrollokkal összehasonlítva ( $0,58 \pm 0,12$  mm vs.  $0,46 \pm 0,04$  mm,  $p<0,0001$ ). A carotis IMT esetén további szignifikáns eltérést detektáltunk a társbetegség szerinti obez alcsoportok között: az atherosclerosisra hajlamosító társbetegségben szenvedő elhízottakban szignifikánsan nagyobb volt a carotis IMT, mint a társbetegség nélküli obez egyénekben ( $0,60 \pm 0,12$  mm vs.  $0,54 \pm 0,11$  mm,  $p=0,044$ ).

#### **4.5. Thrombocytá aktivációs markerek és carotis intima-media vastagság kapcsolata**

A thrombocytá aktivációs markerek arteria carotis falvastagsággal való összefüggéseinek korrelációs analízise során mind a thrombocytá felszíni P-szelektin expresszió ( $r=0,37$ ,  $p<0,0001$ ) és szolubilis P-szelektin szint ( $r=0,17$ ,  $p=0,039$ ), mind a thrombocytá eredetű MP szám ( $r=0,32$ ,  $p=0,0001$ ) szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a carotis IMT-vel.

#### **4.6. Az elhízás atherosclerotikus társbetegségeinek hatása az adipokin szintekre**

A leptin, adiponektin, rezisztin, TNF- $\alpha$  és IL-6 plazma szintekben nem volt szignifikáns különbség a két atherosclerotikus társbetegség szerinti obez csoport között. A kontrollokhöz képest mindkét obez alcsoportban szignifikánsan magasabb volt a leptin, rezisztin, TNF- $\alpha$  és IL-6 szint, és szignifikánsan alacsonyabb az adiponektin szint.

#### **4.7. Adipokinek és hemosztatikus paraméterek összefüggései**

Korrelációs analízis alkalmazásával vizsgáltuk az adipokin plazma szintek hemosztatikus paraméterekkel való összefüggéseit. Az összes vizsgált adipokin szignifikánsan ( $p\leq 0,05$ )

korrelált a thrombocyta számmal, az MPV-vel, a thrombocyta MP számmal, a fibrinogén és PAI-1 antigén szintekkel. A leptin, rezisztin, TNF- $\alpha$  és IL-6 szintek pozitív, míg az adiponektin negatív összefüggést mutatott ezen hemosztatikus paraméterekkel. Kiemelendő a thrombocyta MP szám szoros szignifikáns ( $p \leq 0,001$ ) pozitív korrelációja a leptin ( $r=0,44$ ), rezisztin ( $r=0,30$ ), TNF- $\alpha$  ( $r=0,35$ ) és IL-6 ( $r=0,33$ ) szintekkel, és negatív összefüggése az adiponektin szinttel ( $r=-0,36$ ). A rezisztin szignifikáns pozitív korrelációt mutatott mind a thrombocyta felszíni P-szelektin expresszióval, mind a szolubilis P-szelektin szinttel. A leptin és szolubilis P-szelektin szintek között szignifikáns pozitív kapcsolat igazolódott. Ezzel ellentétben az adiponektin és szolubilis P-szelektin szintek között szignifikáns negatív korrelációt találtunk. A TNF- $\alpha$  és IL-6 szintek nem mutattak szignifikáns összefüggést a P-szelektin szintekkel. A VIII-as faktor aktivitással a leptin, rezisztin és IL-6 plazma szintek szignifikáns pozitív korrelációját bizonyítottuk. Az adiponektin és TNF- $\alpha$  szintek nem mutattak szignifikáns összefüggést a VIII-as faktor aktivitással.

#### *Az adipokinek hemosztatikus paraméterekkel való független összefüggései*

Az adipokin és hemosztatikus paraméter szintek közötti független összefüggések feltárása céljából többszörös regressziós analízist alkalmaztunk. Vizsgálatunkban a hemosztatikus paraméterek: a thrombocyta aktiváció, a hyperkoaguláció és a hypofibrinolízis markerei voltak a függő változók és a klasszikus adipokinek, az életkor és nem szerepeltek magyarázó változóként. A leptin szint a thrombocyta számmal ( $p < 0,0001$ ), MPV-vel ( $p=0,019$ ), a thrombocyta MP számmal ( $p < 0,0001$ ), a fibrinogén szinttel ( $p=0,001$ ) és VIII-as faktor aktivitással ( $p=0,035$ ); az adiponektin a PAI-1 antigén szinttel ( $p=0,035$ ), a rezisztin a szolubilis P-szelektin szinttel ( $p=0,002$ ); a TNF- $\alpha$  a PAI-1 antigén szinttel ( $p < 0,0001$ ); továbbá az IL-6 a fibrinogén szinttel ( $p=0,011$ ) mutatott független szignifikáns összefüggést.

#### **4.8. Adipokinek és carotis intima-media vastagság kapcsolata**

Az adipokinek és a carotis IMT közötti összefüggések korrelációs analízise alapján a carotis IMT erős szignifikáns ( $p \leq 0,0001$ ) pozitív korrelációt mutatott a leptin ( $r=0,48$ ), rezisztin ( $r=0,39$ ), TNF- $\alpha$  ( $r=0,43$ ) és IL-6 ( $r=0,45$ ) szintekkel. A carotis IMT és adiponektin szint között szignifikáns negatív összefüggést találtunk ( $r=-0,26$ ,  $p=0,016$ ).

#### **4.9. Carotis intima-media vastagság független prediktorai**

Az adipokineket, a thrombocyta aktiváció, a hyperkoaguláció és a hypofibrinolízis markereit, az életkort és a nemet független változóként, a carotis IMT-t függő változóként magába

foglaló modellben, többszörös regressziós analízis segítségével kerestük a carotis IMT-vel független összefüggést mutató adipokineket és hemosztatikus paramétereket. Az analízis eredménye alapján a leptin ( $p=0,0005$ ), az adiponektin ( $p=0,019$ ), az IL-6 ( $p=0,001$ ), az MPV ( $p=0,0003$ ), a thrombocytá MP szám ( $p=0,008$ ), a VIII-as faktor aktivitás ( $=0,043$ ) és az életkor ( $p<0,0001$ ) voltak az arteria carotis falvastagság független előrejelzői.

## **5. MEGBESZÉLÉS**

### **5.1. A thrombocytá hyperaktiváció atherosclerosisissal való összefüggései elhízásban**

Korábbi tanulmányok alapján jól ismert, hogy a thrombocytá aktiváció fontos szerepet tölt be az atherosclerotikus, atherothrombotikus kórfolyamatokban. A vérlemezke aktiváció során a thrombocyták felszínén expresszáldó P-szelektin elősegíti az atherothrombotikus folyamatok lezajlásában jelentős thrombocyták, fehérvérsejtek és endothelsejtek közötti interakciókat. Ugyanakkor a thrombocytá aktiváció során a P-szelektin szolubilis formája is fokozott mennyiségben fordul elő a plazmában, elősegítve a thrombocytá eredetű mikropartikula képződést és a koagulációs kaszkád aktiválódását. A thrombocytá mikropartikulák a vérlemezkékből lefűződő részecskék, melyek a prokoaguláns felszíni tulajdonságaik révén elősegítik a proinflammatorikus és koagulációs folyamatokat. Elhízott egyénekben a thrombocytá aktiváció ezen szenzitív markereinek szintjeire, atherosclerosisban betöltött szerepére vonatkozóan vizsgálatainkat megelőzően kevés irodalmi adat állt rendelkezésre. Néhány, kis betegszámú obez csoportokban végzett tanulmány alapján korábban beszámoltak emelkedett vérlemezke aktivációs paraméter szintekről. Samocha-Bonet és munkatársai ugyanakkor nem detektáltak szignifikánsan fokozott thrombocytá aktivációt elhízott egyénekben a kontroll személyekhez viszonyítva. Tekintettel a vérlemezke aktiváció atherosclerotikus folyamatokban játszott jelentős szerepére, az elhízott egyénekre e tekintetben vonatkozó szegényes és ellentmondásos irodalmi háttérre, fontosnak tartottuk a thrombocytá aktivációs marker szintek egy relatíve nagy betegszámú obez csoportban való meghatározását. Vizsgálataink során a thrombocytá felszíni P-szelektin expressziót, a szolubilis P-szelektin szintet, valamint a thrombocytá eredetű MP számot egyaránt szignifikánsan magasabbnak találtuk az obez csoportban, összevetve a kontrollokkal. Arra a kérdésre keresve a választ, hogy az elhízott egyénekben detektált fokozott thrombocytá aktiváció vajon az obezitást jellemző sajátság vagy az elhízást kísérő atherosclerotikus társbetegségek jelenlétének tulajdonítható, elemeztük a thrombocytá aktivációs marker

szinteket a társbetegség nélküli és az atherosclerotikus társbetegségben is szenvedő obez csoportokban. Eredményeink azt mutatták, hogy mindhárom vizsgált thrombocytá aktivációs marker szint már azokban az obez egyéneknél, akik nem szenvedtek atherosclerosisra hajlamosító társbetegségben, szignifikánsan nagyobb volt a kontroll csoporthoz képest, és az atherosclerotikus társbetegségek jelenléte nem eredményezett további szignifikáns mértékű növekedést a vérlemezke aktivációs marker szintekben.

A Thr715Pro polimorfizmus a P-szelektin gén legszélesebb körben tanulmányozott polimorfizmusa. Irodalmi adatok alapján egészséges egyéneknél a Thr715Pro polimorfizmus befolyásolja a szolubilis P-szelektin szinteket; Pro715 allél jelenléte esetén alacsonyabb szolubilis P-szelektin szintekről, a vaszkuláris folyamatokkal szembeni védő hatásról számoltak be. A Thr715Pro polimorfizmus szív-és érrendszeri betegségekkel való összefüggéseire vonatkozó közlések eredményei ellentmondásosak. Nagy és munkatársai, 2-es típusú cukorbetegségben és túlsúlyos egyéneknél nem találtak szignifikáns különbséget a Thr715Pro polimorfizmus szerinti P-szelektin szintekben. Ismereteink szerint obez populációban elsőként vizsgáltuk a P-szelektin gén Thr715Pro polimorfizmus szolubilis P-szelektin szintekre kifejtett hatását. Eredményeink azt bizonyították, hogy obez egyéneknél szemben a kontroll személyekkel, a Pro715 allél nem befolyásolja szignifikánsan a szolubilis P-szelektin szinteket. Az atherosclerotikus társbetegség szerinti két obez alcsoportban elemezve a heterozigóta és vad típus szolubilis P-szelektin szintjeit, egyik alcsoportban sem találtunk szignifikáns eltérést a két genotípus szerint a szolubilis P-szelektin plazma szintekben.

A thrombocytá aktivációs markerek tradicionális rizikófaktorokkal való összefüggéseinek elemzése során De Pergola és munkatársai által közölt eredményekhez hasonlóan szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a szolubilis P-szelektin szint és a BMI, HOMA-IR, éhomi inzulin és triglicerid szintek között. Jelen vizsgálat a szolubilis P-szelektin további szignifikáns pozitív összefüggését tárta fel a haskőrfogattal és LDL-C szinttel, és inverz szignifikáns korrelációját igazolta a HDL-C szinttel. Korábbi tanulmánnyal megegyezően szoros összefüggést mutattunk ki a thrombocytá felszíni P-szelektin expresszió és a BMI között. Vizsgálatunkban a felszíni P-szelektin az antropometriai paraméterek mellett szignifikánsan korrelált a vérnyomás értékekkel, és a szénhidrát és lipid anyagcsere paramétereivel. Murakami és munkatársai elhízott egyéneknél a thrombocytá eredetű MP és BMI közötti szignifikáns pozitív korrelációról számoltak be. Elemzéseink igazolták, hogy a BMI a thrombocytá MP szám független előrejelzője. Adataink továbbá a thrombocytá MP szám haskőrfogattal, szisztolés és diasztolés vérnyomás értékekkel és a szénhidrát háztartás

paramétereivel való szignifikáns pozitív összefüggéseit tárták fel. Elhízott egyéneknél a thrombocyták mikropartikula száma az összkoleszterin szinttel nem mutatott szignifikáns korrelációt, azonban az LDL-C és triglicerid szintekkel szignifikáns pozitív, a HDL-C szinttel szignifikáns negatív összefüggésben állt.

A centrális zsírakkumulációval független összefüggést mutató alacsony fokú, krónikus, szisztémás gyulladási marker, a CRP mind a thrombocyták felszíni és szolubilis P-szelektin szintekkel, mind a thrombocyták MP számmal szignifikáns pozitív összefüggést mutatott vizsgálatunkban.

A korábbi irodalmi adatokkal összehangban, tanulmányunkban a koaguláció prothrombotikus eltolódását jelző paraméterek: a fibrinogén, a VIII-as faktor aktivitás és a PAI-1 antigén szintek magasabbak voltak az obez csoportban a normál testtömegű egészségesekhez viszonyítva. Eredményeink azt mutatták, hogy ezen prothrombotikus tényezők plazma szintjei elhízott egyéneknél, kísérő atherosclerotikus betegségek jelenléte hiányában is szignifikánsan emelkedettebbek a kontrollokhoz képest. De Pergola és munkatársai korábbi tanulmányukban a szolubilis P-szelektin és PAI-1 antigén szintek között szignifikáns pozitív összefüggést igazoltak, azonban a szolubilis P-szelektin és fibrinogén plazma szintek között nem találtak szignifikáns kapcsolatot. Vizsgálatunkban a szolubilis P-szelektin szint mind a PAI-1 antigén, mind a fibrinogén szinttel szignifikáns pozitív összefüggést mutatott. A fibrinogén a szolubilis P-szelektin szint független előrejelzőjének bizonyult. Adataink a thrombocyták felszíni P-szelektin és a PAI-1 antigén szint között független szignifikáns pozitív korrelációt igazoltak. Vizsgálatunk a thrombocyták mikropartikula száma mindhárom vizsgált prothrombotikus paraméterrel való szignifikáns pozitív összefüggését bizonyította.

Eredményeink a vérlemezke aktivációs markerek vaszkuláris rizikófaktorokkal és a koaguláció prothrombotikus irányú eltéréseinek paramétereivel való szoros kapcsolatát mutatták. Kiemelendő, hogy a thrombocyták MP száma az antropometriai mutatókkal, vérnyomás értékekkel, szénhidrát és lipid anyagcsere paraméterekkel, a hyperkoaguláció és hypofibrinolízis markereivel egyaránt szignifikánsan korrelált.

A carotis IMT a szubklinikus atherosclerosis megbízható markere és a kardio- és cerebrovaszkuláris események független előrejelzője. Az atherosclerotikus társbetegség nélküli obez csoportban az egészséges kontrollokhoz képest detektált szignifikánsan nagyobb arteria carotis falvastagság jelzi, hogy az elhízott egyéneket az atherosclerotikus társbetegségek jelenlététől függetlenül szubklinikus atherosclerosis és következményes fokozott atherothrombotikus rizikó jellemzi. Obez egyéneknél az atherosclerotikus

társbetegségek jelenléte a carotis falvastagság további szignifikáns emelkedését eredményezte a társbetegség nélküli elhízott egyénekhez képest, azt demonstrálva ezzel, hogy a kísérő atherosclerotikus betegségek egyéb eltérő útvonalakon keresztül tovább növelik az atherosclerotikus vaszkuláris betegségek kialakulásának a kockázatát.

2-es típusú diabetes mellitusban, hypertóniában, dyslipidaemiában és atherosclerotikus cerebrovaszkuláris betegségben korábbi tanulmányok szignifikáns pozitív korrelációt írtak le a thrombocytá P-szelektin és a carotis IMT között. Vizsgálatunk elhízott egyéneknél bizonyította a thrombocytá felszíni és szolublis P-szelektin szintek arteria carotis falvastagsággal való szignifikáns pozitív összefüggéseit. Tudomásunk szerint az irodalomban elsőként vizsgáltuk a thrombocytá eredetű mikropartikula szám carotis IMT-vel való kapcsolatát, szoros szignifikáns összefüggésüket bizonyítva elhízott egyéneknél.

## **5.2. Az adipokinek atherosclerosisral való kapcsolatai elhízásban**

Az elhízással összefüggő megváltozott adipokin szekréciós profil atherosclerotikus vaszkuláris betegségek pathogenezisében betöltött jelentős szerepére vonatkozó irodalmi adatok döntően experimentális vizsgálatokból származnak. E tekintetben elhízott betegekben, az experimentális modellekhez képest, jelentősen kevesebb és vitatottabb irodalmi adat áll rendelkezésre. Vizsgálataink második felében az elhízott egyéneket jellemző adipokin profil és az atherosclerosis meghatározó tényezői közé tartozó hemosztatikus paraméterek és carotis falvastagság közötti összefüggések feltárásával, az adipokinek obez betegek atherosclerosisában betöltött vitatott szerepének tisztázásához kívántunk hozzájárulni.

Az adipokin plazma szintek atherosclerotikus társbetegség nélküli és atherosclerotikus társbetegségben is szenvedő obez egyének közötti összehasonlítása során arra a kérdésre kerestünk választ, hogy obez betegek adipokin szintjeit hogyan befolyásolja az atherosclerotikus társbetegségek jelenléte. Eredményeink azt bizonyították, hogy elhízott egyéneknél az atherosclerosisra hajlamosító társuló betegségek nem eredményeznek további szignifikáns változást az adipokin szintekben.

A thrombocytá szám és az MPV a klinikai gyakorlatban széles körben elérhető thrombocytá paraméterek. A thrombocytá szám és a kardiovaszkuláris betegségek kimenetele közötti összefüggésre vonatkozó korábbi adatok ellentmondásosak. Thaulow és munkatársai az iszkémiás szívbetegségben szenvedő betegek mortalitása és az emelkedett thrombocytá koncentráció összefüggéséről számoltak be. Továbbá, akut koronária szindrómában szenvedő betegek esetén a magasabb thrombocytá szám korrelált a betegség kedvezőtlen klinikai kimenetelével. Ezzel szemben más populáció alapú tanulmányok arra utaltak, hogy a

thrombocyták szám és a kardiovaszkuláris események kimenetele között nincs kapcsolat. Az MPV a kardiovaszkuláris rizikó és prognózis prediktív biomarkere. A nagyobb thrombocyták a thrombocyták funkcióira hatással lévő nagyobb hemosztatikus potenciállal bírnak. A thrombocyták szám és mérete főként a csontvelőben a megakaryocytosis által meghatározott. Az IL-6 jelentős szerepet játszik a megakaryocytosis serkentésében, ezáltal a thrombocyták számának és méretének emelkedésében. A TNF- $\alpha$  az IL-6 de novo szintézisének elősegítése által hat a vérelemek képződésére. Az említett adatokkal összhangban, az IL-6 és TNF- $\alpha$  thrombocyták számával és MPV-vel való szignifikáns összefüggéseit észleltük elhízott egyéneknél. Továbbá, a jelen vizsgálatban a leptin és a rezisztin szignifikáns pozitív, míg az adiponektin szignifikáns negatív korrelációt mutatott a thrombocyták számával és az MPV-vel. A leptin független kapcsolata igazolódott ezen thrombocyták paraméterekkel.

Habár a thrombocyták aktiváció szenzitív markereit jelentő thrombocyták felszíni P-szelektin expresszió, szolubilis P-szelektin szint és thrombocyták MP szám, és az elhízással összefüggő megváltozott adipokin profil egyaránt jelentőséggel bírnak az atherogenezis szempontjából, eddig az egymással való összefüggéseik az atherosclerosis pathogenezisének egy ismeretlen szegmensét jelentette elhízott egyéneknél. A thrombocyták aktivációs markerek és adipokin szintek közötti kapcsolatok feltárására irányuló kutatásaink során, az irodalomban elsőként bizonyítottuk a rezisztin thrombocyták P-szelektin expresszióval és szolubilis P-szelektin szinttel való szignifikáns pozitív összefüggését. Többszörös regressziós analízis a rezisztin és a szolubilis P-szelektin szint független kapcsolatát igazolta. Továbbá, a leptin és szolubilis P-szelektin szint között szignifikáns pozitív, míg az adiponektin és szolubilis P-szelektin között szignifikáns negatív korrelációt mutattunk ki. Tanulmányunk eredményei között külön kell hangsúlyozni a magas thrombogén aktivitású thrombocyták MP szám összes vizsgált adipokin szinttel való szoros kapcsolatát. A leptin a thrombocyták MP szám független előrejelzőjének bizonyult. Eredményeink arra utalnak, hogy elhízott egyéneknél az adipokinek atherogén hatásaihoz részben hozzájárulnak a thrombocyták aktivációs paraméterekkel való összefüggéseik.

Az atherothrombosis során a thrombocyták aktiváció és a koagulációs kaskád aktivációs lépései egymással szoros összefüggésben zajlanak. Az adipokin és a koagulációs kaskád fontos komponensét jelentő fibrinogén szintek közötti kapcsolat elemzése során, a korábbi tanulmányokhoz hasonlóan, a fibrinogén szint a leptin, rezisztin és IL-6 szintekkel szignifikánsan pozitívan, míg az adiponektin szinttel szignifikánsan negatívan korrelált. Ezen túlmenően szignifikáns pozitív összefüggést demonstráltunk a fibrinogén és a TNF- $\alpha$  szintek között elhízott egyéneknél. A vizsgálatunkban szereplő további jelentős koagulációs

paraméter, a VIII-as faktor leptin és IL-6 szintekkel mutatott keresztmetszeti szignifikáns pozitív összefüggése megegyezett a korábbi közlések eredményeivel. Wannamethee és munkatársai, meglepő módon az adiponektin és a VIII-as faktor aktivitás közötti szignifikáns pozitív korrelációról számoltak be. Jelen vizsgálat nem talált az adiponektin és a VIII-as faktor aktivitás között szignifikáns összefüggést. Tanulmányunk szignifikáns pozitív korrelációt tárt fel a rezisztin és a VIII-as faktor aktivitás között elhízásban. Vizsgálatunk megerősítette annak a közlésnek az eredményét, amely a leptin ezen két koagulációs markerrel való független összefüggéseiről számolt be és további független kapcsolatot tárt fel az IL-6 és fibrinogén szintek között. Az elhízást jellemző károsodott fibrinolízis markere, a PAI-1 antigén vizsgálatunkban az irodalmi adatokkal megegyezően szignifikánsan pozitívan korrelált a leptin, a TNF- $\alpha$  és IL-6 szintekkel és szignifikánsan negatívan az adiponektin szinttel. Vizsgálatunk további szignifikáns pozitív összefüggést tárt fel a PAI antigén és a rezisztin plazma szintek között. A TNF- $\alpha$  erős stimulátora az elhízást jellemző emelkedett PAI-1 zsírszöveti expressziójának és jelentősen hozzájárulhat az elhízást jellemző emelkedett PAI-1 szinthez. Jelen tanulmány igazolta, hogy elhízott betegekben a TNF- $\alpha$  a PAI-1 antigén szint független prediktora; valamint bizonyította, hogy az adiponektin a TNF- $\alpha$  szint mellett, ugyancsak független összefüggést mutat a PAI-1 antigén szinttel. Az adipokin szintek és a hyperkoaguláció, valamint hypofibrinolízis markerei között tanulmányunk által elhízott egyéneknél feltárt szignifikáns korrelációk alátámasztják azokat a korábbi megfigyeléseket, amelyek szerint az elhízást jellemző adipokin profil szorosan összefügg a koaguláció prothrombotikus irányú eltéréseivel.

Az adipokinek arteria carotis falvastagsággal való kapcsolatának vizsgálata során a korábbi közlemények eredményeivel összhangban a carotis IMT leptin és IL-6 szintekkel való szignifikáns pozitív, míg az adiponektin szinttel való szignifikáns inverz korrelációját találtuk. Adataink demonstrálták, hogy a korábban, elhízott gyerekekben leírt carotis IMT és rezisztin közötti szignifikáns pozitív összefüggés obez felnőttekben is fennáll. Továbbá szoros szignifikáns pozitív összefüggést mutattunk ki a TNF- $\alpha$  plazma szint és az atherosclerosis kezdeti fázisa között obezitásban. A fibrinogén és carotis IMT között szignifikáns pozitív összefüggést találtunk, alátámasztva a korábbi megfigyeléseket. Arslan és munkatársai szignifikáns pozitív korrelációt írtak le obez serdülőkben az MPV és az IMT között. Eredményeink megerősítették ezt az összefüggést obez felnőttekben. Továbbá obez betegekben a carotis IMT szignifikáns pozitív kapcsolatát bizonyítottuk a thrombocytákkal, a VIII-as faktor aktivitással és PAI-1 antigén szinttel. Többszörös regressziós analízis segítségével kerestük az arteria carotis falvastagság független prediktorait jelentő

adipokineket és hemosztatikus paramétereiket. Korábbi tanulmányok eredményeivel megegyezően független szignifikáns kapcsolatot mutattunk ki a carotis IMT és a leptin, adiponektin, és IL-6 plazma szintek, valamint az életkor között. Munkánk során továbbá bizonyítottuk, hogy az MPV, a thrombocytá MP szám és a VIII-as faktor aktivitás ugyancsak független előrejelzői az arteria carotis falvastagságnak.

Arra a kérdésre, hogy az adipokinek és thrombocytá aktivációs markerek oki szerepet játszanak az elhízott egyének atherosclerosisának kialakulásában vagy csupán markerei az atherosclerosisnak a hosszmetzeti vizsgálat adatai fogják megadni a választ. Ugyancsak a követéses vizsgálat eredményei segítenek majd tisztázni az adipokinek és thrombocytá aktivációs markerek hosszútávú atherosclerotikus kardiovaszkuláris kimenetelben játszott szerepét.

## **6. ÖSSZEFOGLALÁS**

Elhízásban akcelerált atherosclerosis, ennek következtében fokozott szív-és érrendszeri morbiditás és mortalitás alakul ki. E népegészségügyi jelentőségű kórkép esetén a thrombocytá aktivációs markerek és adipokinek érlemeszesedéssel való összefüggéseinek vizsgálatával azokhoz a törekvésekhez kívántunk kiegészítő adatokat szolgáltatni, amelyek az elhízással összefüggő felgyorsult érlemeszesedés pathogenesisének jobb megismerését, ezáltal a hatékonyabb megelőzését és kezelését szolgálják.

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy elhízásban, függetlenül az atherosclerotikus társbetegségek jelenlététől, fokozott a thrombocyták aktiváltsági állapota, mely mind az emelkedett thrombocytá felszíni P-szelektin expresszióban és szolubilis P-szelektin plazma szintben, mind a magasabb thrombocytá eredetű mikropartikula számban megmutatkozik. A kontroll csoportban a P-szelektin gén Thr715Pro polimorfizmus hetero-és homozigóta formáiban a szolubilis P-szelektin szint szignifikánsan alacsonyabb volt a vad genotípushoz viszonyítva; ez a különbség obezításban nem volt kimutatható. A thrombocytá aktivációs markerek vérnyomás értékekkel, antropometriai, metabolikus és gyulladáso paraméterekkel, valamint a koagulációs rendszer prothrombotikus eltéréseinek markereivel való szignifikáns összefüggéseit igazoltuk elhízott egyéneknél. Eredményeink rámutattak a vérlemezke aktivációs markerek arteria carotis communis intima-media vastagsággal, mint a preklinikai atherosclerosis markerével való szoros kapcsolatra.

Munkánk során bizonyítottuk, hogy a klasszikus adipokinek: leptin, adiponektin, rezisztin, TNF- $\alpha$  és IL-6 plazma szintjei nem különböznek szignifikánsan az atherosclerotikus társbetegség nélküli és az atherosclerotikus társbetegségben is szenvedő elhízott egyének között. Az adipokinek hemosztatikus paraméterekkel: a thrombocyta hyperaktiváció, a hyperkoaguláció és a hypofibrinolízis markereivel való szignifikáns korrelációit tártuk fel obezitásban. Vizsgálataink az elhízással összefüggő adipokin eltérések arteria carotis falvastagsággal való szoros kapcsolatát mutatták. A carotis IMT adipokin szintekkel és hemosztatikus paraméterekkel való független összefüggéseinek elemzése során megállapítottuk, hogy a leptin, az adiponektin, az IL-6, az MPV, a thrombocyta mikropartikula szám és a VIII-as faktor aktivitás az arteria carotis falvastagság prediktív markerei. Eredményeink tehát a megváltozott adipokin profil és thrombocyta hyperaktiváció, valamint a köztük fennálló szoros összefüggések carotis atherosclerosisban játszott meghatározó szerepét jelzik elhízott egyéneknél.

## **7. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ EREDMÉNYEI, MEGÁLLAPÍTÁSAI, KLINIKAI JELENTŐSÉGE**

- A thrombocyta hyperaktiváció atherosclerotikus társbetegség nélküli elhízott egyéneknél való kimutatásával bizonyítottuk, hogy az elhízás, függetlenül az atherosclerosisra hajlamosító kísérő betegségektől, prothrombotikus állapotnak tekintendő.
- A P-szelektin Thr715Pro polimorfizmus esetén igazoltuk, hogy a Pro715 allél szolubilis P-szelektin vonatkozásában feltételezett atherosclerotikus folyamatok elleni védő hatása elhízott egyéneknél elvész az egészségesekkel szemben. A Pro715 allél szolubilis P-szelektin szintet az obez és kontroll populációban eltérően befolyásoló hatásának hátterében álló mechanizmus felderítése a jövőben hozzájárulhat az elhízott egyének akcelerált atherogenezisének jobb megismeréséhez, befolyásolásához.
- A thrombocyta felszíni és szolubilis P-szelektin szintek, és a thrombocyta mikropartikula szám vaszkuláris rizikófaktorokkal, prothrombotikus paraméterekkel és carotis IMT-vel való szoros kapcsolatát mutattuk ki. Ezen összefüggések alapján feltételezhető, hogy a thrombocyta P-szelektin és mikropartikula kulcsszerepet töltenek be a vaszkuláris kockázati tényezők, a koaguláció prothrombotikus eltérései és az atherosclerosis kialakulása közötti összeköttetés megteremtésében obezitásban.

- Megállapítottuk, hogy elhízott egyéneknél az atherosclerosisra hajlamosító társbetegségek jelenléte nem eredményez további szignifikáns változást az adipokin plazma szintekben.
- Az irodalomban elsőként az adipokinek vérlemezke aktivációs markerekkel való szoros összefüggését tártuk fel obezításban.
- Rámutattunk az obez betegek megváltozott adipokin szintjei és a koaguláció prothrombotikus eltérései közötti, eddig ismeretlen szignifikáns korrelációikra.
- Vizsgálatainkkal az adipokin szintek carotis atherosclerosisossal való szoros kapcsolatát alátámasztó új összefüggéseket tártunk fel elhízott egyéneknél. Az adipokinek atherosclerosisban való direkt és hemosztatikus tényezőkön keresztüli hatásmechanizmusainak pontos feltárása a jövőben ígéretes specifikus vaszkuloprotektív és terápiás célpontokat jelenthet.
- Eredményeink tehát az elhízott egyének akcelerált atherosclerosisában és fokozott kardiovaszkuláris rizikójában, függetlenül az atherosclerotikus társbetegségek jelenlététől, a megváltozott adipokin profil és thrombocytá hyperaktiváció meghatározó szerepét jelzik. Ezért elhízásban az adipokinek és thrombocytá aktivációs markerek a fokozott atherothrombotikus rizikó korai biomarkereiként szolgálhatnak.

## **8. KUTATÁSI TÁMOGATÁSOK**

Munkánk az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA, 75199), a TÁMOP 4.2.1/B-091/1/KONV-2010-0007 és a GINOP-2.3.2-15-2016-00005 projektek támogatásával készült. A projektek az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósultak meg.

## 9. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE



DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/98/2017.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Csongrádi Éva  
Neptun kód: LBZFP1  
Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Csongrádi, É.**, Káplár, M., Nagy, B., Koch, C. A., Juhász, A., Bajnok, L., Varga, Z., Seres, I., Karányi, Z., Magyar, M. T., Oláh, L., Facskó, A., Kappelmayer, J., Paragh, G.: Adipokines as atherothrombotic risk factors in obese subjects: associations with haemostatic markers and common carotid wall thickness.  
*Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. [Epub ahead of print]*, 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2017.02.007>  
IF: 3.39 (2015)
2. **Csongrádi, É.**, Nagy, B., Fülöp, T., Varga, Z., Karányi, Z., Magyar, M. T., Oláh, L., Papp, M., Facskó, A., Kappelmayer, J., Paragh, G., Káplár, M.: Increased levels of platelet activation markers are positively associated with carotid wall thickness and other atherosclerotic risk factors in obese patients.  
*Thromb. Haemost. 106* (4), 683-692, 2011.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1160/TH11-01-0030>  
IF: 5.044





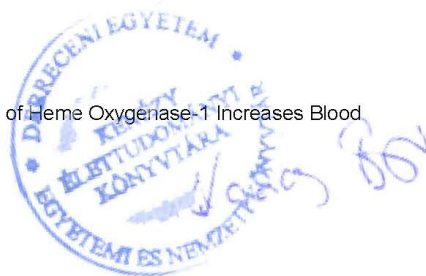
További közlemények

3. Farah Musa, A., Fülöp, T., Kokko, K., Kanyicska, B., Lewin, J. R., **Csongrádi, É.**: Cytomegalovirus colitis in a critically ill, dialysis-dependent, acute kidney injury patient without immunosuppressive therapy.  
*Clin. Nephrol.* 84 (1), 44-49, 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.5414/CN108417>.  
IF: 1.065
4. Fülöp, T., **Csongrádi, É.**, Lerant, A., Lewin, M., Lewin, J. R.: Resolution of C1q deposition but not of the clinical nephrotic syndrome after immunomodulating therapy in focal sclerosis.  
*J. Nephrothol.* 4 (2), 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.12860/jnp.2015.11>.
5. **Csongrádi, É.**, Shoemaker, M. M., Zsom, L., Wells, C., Lengvárszky, Z., Tapolyai, M., Fülöp, T.: The Efficacy of Intravenous versus Subcutaneous Recombinant Erythropoietin in Obese African-African Patients in a Southeast U.S. Dialysis Cohort.  
*Br. J. Med. Med. Res.* 4 (1), 184-193, 2014.
6. Avusula, R., Shoemaker, M. M., Pathak, M. B., **Csongrádi, É.**, Fülöp, T.: Bacterial Peritonitis Following Esophagogastroduodenoscopy in a Patient on Peritoneal Dialysis.  
*Br. J. Med. Med. Res.* 3 (3), 784-789, 2013.
7. Gharaibeh, K. A., Craig, M. J., Koch, C. A., Lerant, A., Fülöp, T., **Csongrádi, É.**: Desmopression is an effective adjunct treatment for reversing excessive hyponatremia overcorrection.  
*World J. Clin. Cases.* 1 (5), 155-158, 2013.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.12998/wjcc.v1.i5.155>
8. Fülöp, T., Iboaya, B. U., Avusula, R., **Csongrádi, É.**, Juncos, L. A.: Recalcitrant hypoglycemia resolved with 2.5% dextrose containing replacement fluid during hemodiafiltration.  
*Ren. Fail.* 35 (7), 1035-7, 2013.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/0886022X.2013.810157>  
IF: 0.775
9. Ferguson, L. M., Dreisbach, A. W., **Csongrádi, É.**, Juncos, L. A., Fülöp, T.: Recurring Extracorporeal Circuit Clotting During Continuous Renal Replacement Therapy in Fungal Sepsis.  
*Am. J. Med. Sci.* 345 (3), 256-258, 2013.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/MAJ.0b013e3182711e59>  
IF: 1.515



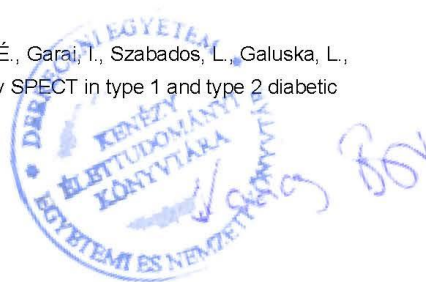


10. Elmahi, N., **Csongrádi, É.**, Kokko, K., Lewin, J. R., Davison, J., Fülöp, T.: Residual renal function in peritoneal dialysis with failed allograft and minimum immunosuppression. *World J. Transplant.* 3 (2), 26-29, 2013.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.5500/wjt.v3.i2.26>
11. Agarwal, M., **Csongrádi, É.**, Koch, C. A., Juncos, L. A., Echols, V., Tapolyai, M., Fülöp, T.: Severe Symptomatic Hypocalcemia after Denosumab Administration in an End-Stage Renal Disease Patient on Peritoneal Dialysis with Controlled Secondary Hyperparathyroidism. *Br. J. Med. Med. Res.* 3 (4), 1398-1406, 2013.
12. Fülöp, T., Tapolyai, M., Qureshi, N. A., Beemidi, V. R., Gharaibeh, K. A., Hamrahan, S. M., Szarvas, T., Kovcsdy, C. P., **Csongrádi, É.**: The safety and efficacy of bedside removal of tunneled hemodialysis catheters by nephrology trainees. *Ren. Fail.* 35 (9), 2013.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/0886022X.2013.823875>  
IF: 0.775
13. **Csongrádi, É.**, DoCarmo, J. M., Dubinion, J. H., Vera, T., Stec, D. E.: Chronic HO-1 induction with cobalt protoporphyrin (CoPP) treatment increases oxygen consumption, activity, heat production and lowers body weight in obese melanocortin-4 receptor-deficient mice. *Int. J. Obes. (Lond).* 36 (2), 244-253, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2011.78>  
IF: 5.221
14. Stec, D. E., Drummond, H. A., Gousette, M. U., Storm, M. V., Abraham, N. G., **Csongrádi, É.**: Expression of Heme Oxygenase-1 in Thick Ascending Loop of Henle Attenuates Angiotensin II-Dependent Hypertension. *J. Am. Soc. Nephrol.* 23 (5), 834-841, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2011050455>  
IF: 8.987
15. Gharaibeh, K. A., **Csongrádi, É.**, Shoemaker, M. M., Lerant, A., Tapolyai, M., Fülöp, T.: Pulmonary embolization with tunneled hemodialysis catheter-associated blood stream infection: the perils of systemic anticoagulation. *Nephrology reviews.* 4 (2), 73-75, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.4081/nr.2012.e17>
16. **Csongrádi, É.**, Storm, M. V., Stec, D. E.: Renal Inhibition of Heme Oxygenase-1 Increases Blood Pressure in Angiotensin II-Dependent Hypertension. *Int. J. Hypertens.* 2012, Article ID 497213, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/497213>



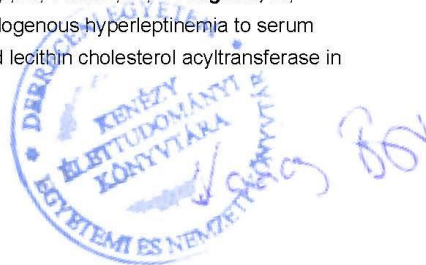


17. **Csongrádi, É.**, Juncos, L. A., Drummond, H. A., Vera, T., Stec, D. E.: Role of carbon monoxide in kidney function: is a little carbon monoxide good for the kidney?  
*Curr. Pharm. Biotechnol.* 13 (6), 819-826, 2012.  
IF: 2.69
18. Hamrahian, S. M., Pitman, K. T., **Csongrádi, É.**, Bain, J. H., Kanyicska, B., Fülöp, T.:  
Symmetrical craniofacial hypertrophy in patients with tertiary hyperparathyroidism and high-dose cinacalcet exposure.  
*Hemodial Int.* 16 (4), 571-576, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1542-4758.2012.00670.x>  
IF: 1.440
19. Arany, I., Grifoni, S., Clark, J. S., **Csongrádi, É.**, Maric, C., Juncos, L. A.: Chronic nicotine exposure exacerbates acute renal ischemic injury.  
*Am. J. Physiol.-Renal Physiol.* 301 (1), F125-F133, 2011.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajprenal.00041.2011>  
IF: 3.682
20. George, E. M., Cockrell, K., Aranay, M., **Csongrádi, É.**, Stec, D. E., Granger, J. P.: Induction of Heme Oxygenase-1 Attenuates Placental-Ischemia Induced Hypertension.  
*Hypertension.* 57 (5), 941-948, 2011.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.169755>  
IF: 6.207
21. **Csongrádi, É.**, Vera, T., Rimoldi, J. M., Gadepalli, R. S., Stec, D. E.: In Vivo Inhibition of Renal Heme Oxygenase with an Imidazole- Dioxolane Inhibitor.  
*Pharmacol. Res.* 61 (6), 525-530, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2010.02.006>  
IF: 3.612
22. Katkó, M., Kádár, A., Kosaras, E., Kárpáti, I., Mátyus, J., **Csongrádi, É.**, Kiss, I., Posta, J., Kovács, B., Paragh, G., Balla, J., Varga, Z.: A nikkell szerepe a homociszteinszint alakításában, in vivo és in vitro eredmények.  
*Metabolizmus.* 7 (4), 244-249, 2009.
23. Káplár, M., Paragh, G., Erdei, A., **Csongrádi, É.**, Varga, É., Garai, I., Szabados, L., Galuska, L., Varga, J.: Changes in cerebral blood flow detected by SPECT in type 1 and type 2 diabetic patients.  
*J. Nucl. Med.* 50 (12), 1993-1998, 2009.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.2967/jnumed.109.066068>  
IF: 6.424





24. Katkó, M., Kiss, I., Kárpáti, I., Kádár, A., Mátyus, J., **Csongrádi, É.**, Posta, J., Paragh, G., Balla, J., Kovács, B., Varga, Z.: Relationship between serum nickel and homocysteine concentration in hemodialysis patients.  
*Biol. Trace Elem. Res.* 124 (3), 195-205, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12011-008-8139-2>  
IF: 1.013
25. Bajnok, L., **Csongrádi, É.**, Seres, I., Varga, Z., Jeges, S., Peti, A., Karányi, Z., Juhász, A., Mezősi, E., Nagy, E., Paragh, G.: Relationship of adiponectin to serum paraoxonase 1.  
*Atherosclerosis.* 197 (1), 363-367, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2007.06.001>  
IF: 4.601
26. Bajnok, L., Seres, I., Varga, Z., Jeges, S., Peti, A., Karányi, Z., Juhász, A., **Csongrádi, É.**, Mezősi, E., Nagy, E., Paragh, G.: Relationship of serum resistin level of traits of metabolic syndrome and serum paraoxonase 1 activity in a population with a broad range of body mass index.  
*Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 116 (10), 592-599, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-2008-1065350>  
IF: 1.896
27. Juhász, A., Katona, E., **Csongrádi, É.**, Paragh, G.: A testtömeg-szabályozás összefüggése az obesitas kialakulásával.  
*Orv. Hetil.* 39, 1827-1836, 2007.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2007.28085>
28. Nagy, B., **Csongrádi, É.**, Bhattoa, H. P., Balogh, I., Blaskó, G., Paragh, G., Kappelmayer, J., Káplár, M.: Investigation of Thr715Pro P-selectin gene polymorphism and soluble P-selectin levels in type 2 diabetes mellitus.  
*Thromb. Haemost.* 98, 186-191, 2007.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1160/TH06-11-0628>  
IF: 3.501
29. Bajnok, L., Seres, I., Varga, Z., Jeges, S., Peti, A., Karányi, Z., Juhász, A., **Csongrádi, É.**, Mezősi, E., Nagy, E., Paragh, G.: Relationship of endogenous hyperleptinemia to serum paraoxonase 1, cholesteryl ester transfer protein, and lecithin cholesterol acyltransferase in obese individuals.  
*Metabolism.* 56 (11), 1542-1549, 2007.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2007.06.022>  
IF: 2.647





30. Juhász, A., Katona, É., **Csongrádi, É.**, Paragh, G.: Az elhízásról: a gyakorló orvos szemszögéből.  
*Orvosi Hetilap.* 147 (13), 579-590, 2006.
31. Varga, Z., Paragh, G., Seres, I., Kakuk, G., Karányi, Z., Kárpáti, I., Mátyus, J., **Csongrádi, É.**, Juhász, A., Balla, J., Bajnok, L.: Hyperleptinemia is not responsible for decreased paraoxonase activity in hemodialysis patients.  
*Nephron. Clin. Pract.* 103 (3), c114-c120, 2006.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000092020>  
IF: 1.305
32. Paragh, G., Katona, E., **Csongrádi, É.**, Juhász, A.: Az elhízás komplex kezelése.  
*Metabolizmus.* 3 (3), 138-145, 2005.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 65,79**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 8,434**

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2017.04.13.

