

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**A XIII-AS FAKTOR PLAZMA SZINTJÉNEK SZABÁLYOZÁSA
EGÉSZSÉGES EGYÉNEKBEN; A XIII-AS FAKTOR HATÁSA
A KORONÁRIA-BETEGSÉG KOCKÁZATÁRA**

Dr. Mezei András Zoltán

Témavezető:

Prof. Dr. Muszbek László, akadémikus



DEBRECENI EGYETEM
Laki Kálmán Doktori Iskola

Debrecen, 2017

**A XIII-AS VÉRALVADÁSI FAKTOR SZINTJÉNEK SZABÁLYOZÁSA
EGÉSZSÉGES EGYÉNEK PLAZMÁJÁBAN;
A XIII-AS FAKTOR ÉS A KORONÁRIA-BETEGSÉG KOCKÁZATA**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Mezei Zoltán András, orvosi laboratóriumi diagnosztika szakorvos

Készült a Debreceni Egyetem Laki Kálmán doktori iskolája
(Trombózis, Hemosztázis és Vaszkuláris betegségek programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Muszbek László, akadémikus

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Balla József, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Losonczy Hajna, kandidátus
Dr. Harangi Mariann, PhD

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Nephrológiai Tanszék könyvtára
2017. szeptember 22. 11:00 óra

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Riitta Lassila, PhD
Dr. Pfliegler György, kandidátus

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Balla József, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Losonczy Hajna, kandidátus
Prof. Dr. Lassila Riitta, PhD
Dr. Harangi Mariann, PhD
Dr. Pfliegler György, kandidátus

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme
2017. szeptember 22. 13:00 óra.

1. BEVEZETÉS ÉS IRODALOMI ÁTTEKINTÉS

1.1. A XIII-as factor szerkezete

A véralvadás XIII-as faktora (FXIII) protranszglutaminázként van jelen a plazmában (pFXIII), és bizonyos sejtekben (cFXIII). A pFXIII egy heterotetramer (FXIII-A₂B₂), mely két potenciálisan aktív A alegységből (FXIII-A) és két hordozó/blokkoló B alegységből (FXIII-B) áll. A pFXIII 326 kDa molekulatömegű, a plazmakoncentrációja 14-28 mg/L. A plazmában a FXIII-A 99%-a komplexben található, míg a teljes FXIII-B (tFXIII-B) 50%-a szabad homodimerként, a másik fele a FXIII-A-val komplexben kering. Gyakorlatilag az összes pFXIII molekula fibrinogénhez kötve van jelen a plazmában (Kd 10⁻⁸ M). Ez az asszociáció független Ca²⁺ jelenlététől.

A FXIII-A 732 aminosavból áll (molekulatömege: 83 kDa), az első metionint egy szerin követi. Az érett fehérjében a N-terminális metionin eltávolítása után a szerin N-acetiláláson megy keresztül. Az aminosavak számozása jelen tézisben szerinnel kezdődően értendő. A FXIII-A négy fő strukturális és egy N-terminál aktiválási peptidből (AP-FXIII, aminosav 1-37). A fő szerkezeti doménok: a β-szendvics (aminosav 38-184), a központi domén (185-515), β-henger 1 (516-628) és a β-henger 2 (629-731). Az aktív centrumban található cisztein (Cys314) mellett nyolc másik cisztein van a molekulában, melyek egyike sem képez diszulfid hidakat. Az aminosav szekvencia az aktív centrumban tipikus a transzglutaminázokra: Gly-Gln-Cys-Trp.

A FXIII-A-t elsősorban csontvelő eredetű sejtek termelik. A megakariociták és a trombociták nagy mennyiségű cFXIII tartalmaznak, amely a FXIII-A homodimere (FXIII-A₂). A trombocita teljes sejt fehérjéinek mintegy 3%-a FXIII-A. A FXIII koncentrációja trombocitákban 100-150-szer magasabb, mint a plazmában. A cFXIII ugyanakkor jelen van a monocitákban, a csontvelői prekursor sejtekben, a monocita eredetű és a szöveti makrofág sejtekben. A FXIII-A-t kimutatták kondrocitákban, oszteoblasztokban és osteocitákban is. Ezen sejtekben szintetizált FXIII-A felelős a plazma FXIII-A jelenlétéért, azonban a pontos pFXIII szintézis és a cFXIII plazmába kerülése nem ismert.

A FXIII-A-t kódoló gén (F13A1) 6p24-25 kromoszómán található, és több mint 160 kb hosszú. Az átírt mRNS 3,9 kb hosszúságú, mely egy 84-bp hosszú 5'-nem kódoló régióból,

egy 2,2 kb-os kódoló régióból és egy 1,6 kb-os 3' nem kódoló régióból áll. A F13A1 15 exont és 14 intront tartalmaz. Az 1. exon az 5' nem kódoló régió, a 2. exon a AP-FXIII-t kódolja. A β -szendvics tartományt a II-IV exonok, a katalitikus centrumot a IV-XII exonok, a β -hordó doménokat a XII-XIII, illetve XIII-XV exonok kódolják.

A FXIII-B jelentősen meghosszabbítja az FXIII-A féléletidejét a keringésben. Az elmúlt években bevezették a rekombináns FXIII-A₂ (rFXIII-A₂) terápiát a FXIII-A hiányos betegek kezelésében. A rFXIII-A₂ komplexet képez a beteg plazmájában található szabad FXIII-B-vel, mely féléletideje a keringésben (általában 9-14 nap) - hasonlóan a FXIII komplex féléletidejéhez. A FXIII-B 641 aminosavból áll (molekulatömeg: 80 kDa) és 8,5% szénhidrátot tartalmaz. A FXIII-B mozaik fehérje, tíz úgynevezett sushi doménból áll. Minden egyes sushi domént egy pár belső diszulfid híd tart össze. A szakirodalomban található néhány ellentmondásos vélemény ellenére a legtöbb adat arra utal, hogy a FXIII-B a plazmában homodimerként (FXIII-B₂) kering. Egy közelmúltban megjelent tanulmányban a FXIII és a fibrinogén kölcsönhatásáról Byrnes és mtsai. bebizonyították, hogy a "szabad" FXIII-B₂ is a fibrinogénhez kötődik. A FXIII-B-hez hasonlóan a fibrinogén is a hepatocitákban szintetizálódik, így a két fehérje asszociációja létrejöhet a szekréció közben vagy közvetlenül utána is.

A FXIII-B alegységet kódoló gén (F13B) a 1q31-32.1 pozícióban található. 28 kb hosszúságú és 12 exont tartalmaz. Az mRNS 2,2 kb hosszú. Az exonok között 11 intron található. Az 1. exon kódolja a 20 aminosav hosszú vezető (leader) szekvenciát. A II-XI exonok által kódolt sushi domének nagyfokú homológiát mutatnak, mely az evolúció során történt génduplikációra utal. Az utolsó exon a FXIII-B C-terminális régió, a 3' nem kódoló régió, valamint a poliA-farok (polyA tail) kódolásáért felelős. A F13B átírását közvetlenül szabályozza a HNF1 α és α HNF4 faktor.

A FXIII-A és a FXIII-B között létrejövő kapcsolat mechanizmusa még nem teljesen tisztázott. Rekombináns csonka FXIII-B alegységek felhasználásával Souri és mtsai. megállapították, hogy az 1. sushi domén felelős a FXIII-B₂ FXIII-A₂-hoz történő kötődéséért. Legújabbban Katona és mtsai. leírták, hogy egy, a 2. sushi doménon található peptid ellen termeltetett monoklonális antitest reagál a szabad FXIII-B-vel és sikeresen megakadályozta FXIII-A-val való komplex képződését. A fenti eredmények alapján, a FXIII-B N-terminális része felel a komplex létrejöttéért. A FXIII-A-n a kapcsolódás valószínűleg a β -hordó 1 és β -

hordó 2 doménekre lokalizálódik. A FXIII-A-t érintő deléciók ezekben a doménekben a komplex képződés elmaradásához vezetnek.

1.2 A FXIII aktiválása

A véralvadási kaszkád utolsó fázisában a FXIII trombin és Ca^{2+} együttes hatására aktiválódik. Első lépésben a trombin lehasítja az AP-FXIII-t a FXIII N-terminális végéről. A következő lépésben Ca^{2+} jelenlétében a FXIII-B disszociál, és a csonkolt FXIII-A dimer (FXIII-A'₂) átalakul az aktív transzglutaminázzá (FXIII-A*₂; FXIIIa). Ez utóbbi lépésnél szintén szükséges a Ca^{2+} jelenléte. Az aktiválási folyamatot nagymértékben növeli a fibrin jelenléte. A fibrinhez történő kötődés elősegíti a trombin és a pFXIII előnyös orientációját a FXIII-A proteolíziséhez az Arg37-Gly38 pozícióban. A FXIIIa a fibrinhez kötve marad, a szérumban nem mutatható ki trombin által hasított FXIII.

A cFXIII sejten belüli aktivációja egy nem proteolitikus folyamat. A FXIII-B nincs jelen a sejtekben, így a sejten belüli Ca^{2+} -koncentráció emelkedés is elegendő ahhoz, hogy a cFXIII-ban strukturális változások következzenek be, miáltal a FXIII-A₂ felveszi az aktív konfigurációt (FXIII-A^o₂).

1.3. A FXIII biokémiai és fiziológiai funkciója.

A FXIIIa, mint minden aktív transzglutamináz egy acyl-transzfer reakciót katalizál két lépésben. Először a peptidhez kötött glutamin egy bináris komplexet képez az enzimmel. Egy thioacyl köztes termék jön létre a glutamin oldallánc karboxiamid csoportja és az aktív centrum 314-es ciszteinje között, miközben ammónia szabadul fel. A következő lépésben, ha a szubsztrát primer aminocsoportja jelen van, a acyl csoport az elsődleges acyl acceptor aminra kerül és a glutamil és amin csoport között létrejön az izopeptid kötés. Az amin szubsztrát hiányában a thioacyl köztes termék hidrolizál és a glutamin deamidálódik. Ha a primer szubsztrát amin egy peptidhez kötött lizin ϵ -amino-csoportja, akkor a peptid kötés kovalensen keresztkötődik és (ϵ (γ -glutamil-)lysyl) képződik.

A FXIIIa elsődleges fiziológiai szubsztrátja a fibrin- α - és γ -láncok, valamint az α 2 plazmin inhibitor (α 2PI). A FXIIIa a fibrin γ -láncokat dimerekké, az α -láncokat nagy

molekulatömegű polimerekké köti keresztbe, ezáltal javítva az újonnan alakult fibrin mechanikai szilárdságát, mely biztosítja a védelmét a keringő vér nyíróerejétől. A γ -lánc dimer képződés egy gyors folyamat, és minimális FXIIIa elegendő a katalizálására. A nagy molekulású polimer α -láncok kialakulása egy lassabb folyamat, és az α -láncok nagyszámú keresztötése szükséges az acyl donor és akceptor csoportok között. Kis mennyiségben γ - α heterodimerek, valamint γ -lánc trimerek és tetramerek is keletkeznek. A FXIIIa az α 2PI-t keresztöti a fibrin α -láncához. Az α 2PI kovalens kötése a fibrinhez rendkívül fontos a fibrinolízis szabályozásában, megakadályozza az újonnan kialakított alvadék plazmin általi bontását. Az α 2PI mellett FXIIIa egy urokináz típusú plazminogén aktivátor gátlót, a 2-es típusú plazminogén aktivátor inhibitor szintén szubsztrátja a FXIIIa-nak. Az utóbbi két szubsztrát keresztötésének élettani jelentősége kérdéses. A véralvadásban résztvevő fehérjék mellett számos FXIIIa szubsztrátot leírtak, de az in vivo körülmények közötti keresztötésük létrejöttét és annak élettani hatását még nem bizonyították.

A FXIII fő funkciójáról következtethetünk a FXIII hiányos betegek tüneteiből. A terápiában nem részesülő örökletes FXIII-A hiányos betegekben fellépő súlyos vérzékenység egyértelműen azt mutatja, hogy a hatékony véralvadás fontos tényezője a FXIII. A FXIII-A hiányos csecsemőknél a köldökzsinór csomkó bevérezése igen magas arányban következik be (80%). A betegek gyakran szenvednek el ecchymozist, szubkután és intramuszkuláris vérzést. Életveszélyes intrakraniális vérzés az esetek kb. 30%-nál fordul elő. Az öröklött FXIII-B hiány kevésbé súlyos; ebben az esetben 5-10% nem komplexben levő FXIII-A₂ van jelen a plazmában. A veleszületett FXIII hiányos nők nem tudják terhességüket kihordani, általában az első trimeszter során elvetélnék. A sebgyógyulás zavara viszonylag gyakori a FXIII hiányos betegekben. A FXIII szerepét a sebgyógyulásban FXIII hiányos egér modellekben sikerült bizonyítani. A könnyben levő FXIII a szaruhártya sebgyógyulását segítheti, ám a magas koncentrációjú FXIII neovaszkularizációs kockázati tényező, az angiogenezis fokozása által. A FXIII proangiogénikus hatását egyértelműen kimutatható Dardik és mtsai. Az oszteoblasztokban és kondrocitákban a FXIII és a szöveti transzglutamináz 2 faktor egyaránt jelen vannak, ezért lehetséges, hogy az extracelluláris mátrix kialakulásában és stabilizálásában töltenek be szerepet.

Néhány közlemény taglalja csak a cFXIII sejten belüli szerepét. A trombocita aktiválás során a cFXIII csak egy része aktiválódik. A trombocita FXIII-A₂ keresztköti a citoszkeletális komponenseket és részt vesz a trombocita adhézió egyes lépéseiben. A cFXIII-nak szerepe lehet a monocita eredetű dendritikus sejtek mozgásában, valamint a perifériás vér monocitáinak fagocitózisában.

1.4. A FXIII alegységek polimorfizmusai

A F13A1 génben számos aminosav cserével járó polimorfizmust írtak le: FXIII-A p.Val34Leu (c.103G>T, rs5985), FXIII-A p.Tyr204Phe (c.614A>T, rs3024477), FXIII-A p.Leu564Pro (c.1694C>T, rs5982), FXIII-A p.Val650Ile (c.1951G>A, rs5987) and FXIII-A p.Glu651Gln (c.1954G>C, rs5988). A FXIII-A polimorfizmusok közül a 34-es pozícióban levő Val Leu-ra történő cseréje leginkább tanulmányozott. Elsőként Mikkola és mtsai. írták le, hogy a ritka Leu34 allél aránya 23,3% a kaukázusi, 11,7% az afrikai és rendkívül ritka az ázsiai populációban.

Figyelembe véve, hogy az FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus csak 3 aminosavra van a trombin hasítási helyétől, nem meglepő, hogy hatással van a trombin indukálta FXIII aktivációra. Mind a pFXIII, mind a cFXIII esetén bizonyítást nyert, hogy a trombin általi AP-FXIII hasítása 2,5-szer gyorsabb a Leu34 FXIII-A variáns esetén, mint a Val34 variáns esetében. A szintetikus AP-FXIII trombinhoz való kötődését vizsgáló tanulmányok hasonló eredményekre jutottak. A FXIII gyorsabb aktivációja eredményeképpen a fibrin keresztköte is gyorsabban megy végbe és nagyobb mennyiségű α 2PI kötődik keresztbe a fibrinháléhoz. A kezdeti kísérletek eredményeit igazolták a humán plazma összetettebb környezetében végzett vizsgálatok, melyek hasonló következtetésekre jutottak a FXIII-A p.Val34Leu genotípus hatásáról a FXIII trombin általi aktivációjára nézve.

Kezdetben a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus hatásáról a FXIIIa specifikus aktivitására vonatkozóan ellentmondó eredmények születtek. A korai vizsgálatok esetén a trombin csak részlegesen aktiválta a FXIII-t. Ezekben a kísérletekben a FXIII aktivitásának mérése során a FXIII aktivációs rátáját mérték a teljes körű katalitikus aktivitás helyet, ezáltal magasabb FXIII aktivitást mértek a Leu34 allél esetén. Ma már egyértelmű, hogy a teljesen aktivált pFXIII, cFXIII és rFXIII-A₂ aktivitása a különböző FXIII-A p.Val34Leu

genotípusokban megegyezik. A keletkező alvadék szerkezetére viszont hatással van a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus, melyet a fibrinogén koncentráció befolyásol. Magas fibrinogén koncentráció esetén, a Leu34 allélra homozigóta egyének plazma mintáiban az alvadék lazább szerkezetű, vastagabb fibrinszálakkal és megnövekedett áteresztő képességgel, míg alacsony fibrinogén koncentráció esetén az alvadék vékonyabb és szorosabban elhelyezkedő fibrinszálakból áll kisebb áteresztő képességgel. A vad típusú egyének plazma mintáiban nem sikerült fibrinogén koncentráció függő változásokat megfigyelni. A többi FXIII-A polimorfizmus biokémiai hatását nem vizsgálták részletesen.

A FXIII-B polimorf jellegét már régen kimutatták izoelektromos technikák segítségével. Az izoelektromos kísérletek eredményeként három fő, populációhoz-kapcsolódó fenotípust írtak le: FXIII-B*1, FXIII-B*2, és FXIII-B*3, mely csoportosítás az európai, afrikai és ázsiai populációknak felel meg. Molekuláris genetikai és biokémiai módszerek két fő polimorfizmust írtak le a F13B génben. A 3. exonban egy A-G csere (rs6003) következtében a 95. pozícióban levő His Arg-ra cserélődik. A ritka allél (Arg95) csak 7% az európai populációban, de ez a fő allél a (68%) fekete afrikaiak között.

A polimorfizmus nem befolyásolta a FXIII-A, a tFXIII-B vagy a pFXIII antigén szintet a kontrollokat és a érrendszeri betegeket tartalmazó kombinált csoportban. Megemelkedett aegység disszociációt találtak az Arg95 allélt hordozók plazma mintáiban. A homozigóta egyénekből nyert variánsok steady-state kinetikájú rendszerekben történő vizsgálata során nem volt kimutatható különbség a két allél között, ezért további vizsgálatok szükségesek az élettani tulajdonságok pontos tisztázásához.

2009-ben egy C-G nukleotid cserét írtak le az intron K 29756 (c.1952+144 C>G, rs12134960) pozícióban, amely alternatív splicingot eredményez. A polimorfizmus eredménye egy olyan allél-specifikus fehérje, amelyben az utolsó 10 aminosav helyét az alternatív szekvencia 25 aminosava foglalja el. A variáns két további lizint és egy glutaminsavat tartalmaz. Ezek az aminosavak megváltoztatják a fehérje izoelektromos pontját. A polimorfizmus megfelel a FXIII-B*3 fenotípusnak, nagyrészt ázsiaiakban fordul elő (67% a kelet-ázsiaiakban és 32% dél-ázsiai populációban). Az afrikai és az európai populációkban az allél gyakorisága 3%, illetve 16%-os. Bár egy ilyen mélyreható strukturális változás a fehérjében várhatóan megváltoztatja a molekula néhány biokémiai tulajdonságait és hatással lehet a betegségek iránti érzékenységre, ezeket a lehetőségeket eddig nem vizsgálták.

1.5. A FXIII plazma koncentráció szabályzó

A genetikai és nem genetikai tényezők is hatással vannak a FXIII plazma szintjére. Egy tanulmány vizsgálta az életkor, a nem, a dohányzás és a magas vérnyomás hatását a FXIII alegység és -aktivitás szintekre egészséges idős egyéneknél (életkor: $63,8 \pm 16,8$ év). A pFXIII koncentráció esetén nem volt eltérés a különböző FXIII-A p.Val34Leu genotípusok esetén, mely azt sugallja, hogy a szekréciójuk és a plazma felezési idejük is hasonló. Statisztikai elemzéssel, korra és nemre történő korrigálással 47%-os örökletességet állapítottak meg a plazma komplex FXIII (FXIII-A₂B₂) szintekre egészséges családokban. A FXIII-p.Val34Leu polimorfizmus csak az örökletesség kis mértékéért felelt. A Phe204 allél a FXIII-A p.Tyr204Phe polimorfizmus esetén csökkent pFXIII szinteket és aktivitást eredményezett, míg a Leu564 allél a p.Pro564Leu polimorfizmus esetén csökkent FXIII plazma koncentrációval és emelkedett FXIII aktivitással társult. Ezek az eredmények azonban nem validált metodikai mérések eredményei, így megerősítésük szükséges. A FXIII-B polimorfizmusok később kerültek leírásra, és ezen polimorfizmusok hatásáról a FXIII szintekre egészséges egyéneknél még nem született tanulmány.

1.6. A FXIII és a trombótikus betegségek

A klinikai vizsgálatok azt sugallják, hogy a FXIII hatással lehet a trombótikus betegségek kockázatára. A korai tanulmányok többnyire negatív eredményeket közöltek a FXIII szintek és a koronária ateroszklerózis (CAS), valamint a miokardiális infarktus (MI) közötti asszociációról. Ezen tanulmányok eredményei azonban nem voltak nemek szerint is elemelve, és a FXIII aktivitás mérésére használt módszert erősen befolyásolta a FXIII-A pVal34Leu polimorfizmusa. A laboratóriumunkban bebizonyították, hogy a felső harmadban levő emelkedett FXIII aktivitás és a FXIII-A₂B₂ antigén szint 3-szorosára növeli meg a MI kockázatát nőkben, de férfiakban nem. Hasonlóképpen, a magas FXIII szint fokozta a perifériás artériás betegség kockázatát nőkben, de nem a férfiakban. A FXIII és az iszkémiás stroke kapcsolatát csak néhány tanulmány vizsgálta, de ezek eredményei ellentmondóak, részben amiatt, hogy az aterotrombótikus és a kardioembóliás stroke-t nem választották külön.

Egy friss tanulmányban az alacsony tFXIII-B szintekkel társuló genetikai markerek megnövelték a kardiembóliás stroke kockázatát.

Az első tanulmányban, amelyben leírták a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus és koszorúér betegség (CAD) kapcsolatát, Kohler és mtsai. kimutatták a Leu34 allél védő hatását a MI-sal szemben. Ezt követően az eredményeket megerősítő és azoknak ellentmondó tanulmányok jelentek meg. Azt feltételezik, hogy gén-gén és gén-környezet kölcsönhatások állhatnak - legalábbis részben -, a különböző laboratóriumok által nyert különböző eredmények mögött. A mi laboratóriumunkban kimutatták, hogy a Leu34 allélt csökkenti a CAD kockázatát betegekben, de csak emelkedett fibrinogén koncentráció mellett. Leu34 allél CAD-al szembeni védő hatását végül a közölt eredmények metaanalízise erősítette meg.

Csak néhány tanulmány vizsgálta a FXIII-B polimorfizmusok hatását az aterotrombotikus megbetegedésekre. Reiner és mtsai. kimutatták, hogy a FXIII-B Arg95 allél homozigóta formájában csökkenti a nem halálos Mi kockázatát menopauza utáni nőkben. Az Arg95 allél fokozott mortalitással társult (1,7-es növekedés az artériás eredetű agyi iszkémiákban) fiatal nőkben. Macrae és mtsai. vizsgálták a FXIII-B p.His95Arg, FXIII-B intron K c.1952+144 C>G és FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmusok hatását a hasi aorta aneurizma kockázatára. A három polimorfizmus közül csak az Arg95 allél esetén találtak egy mérsékelten emelkedett kockázatot (aorta aneurizma relatív kockázat: 1,240, CI 1,093-1,407, $p = 0,006$). A genom szintű asszociációs vizsgálat arra utal, hogy a FXIII-B polimorfizmusok fontos tényezői lehetnek az iszkémiás stroke kockázat becslésének, azonban az egyes polimorfizmusok nem lettek nevesítve.

Az emelkedett FXIII aktivitás kis mértékben csökkentette a mélyvénás trombózis kockázatát. A FXIII aktivitás meghatározása azonban egy olyan módszerrel történt, amit befolyásol a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus, így az emelkedettnek mért FXIII aktivitások védő hatást eredményeztek a Leu34 allélt hordozó egyének viszonylag nagy arányában a trombózison át nem esett kontrollokban. Ebben a tanulmányban a FXIII-A és a tFXIII-B antigén szintek nem különböztek vénás tromboembólián (VTE) átesett és át nem esett egyének között, és a FXIII alegység szintek sem mutattak asszociációt a trombózis kockázatával. Hasonlóképpen egy új longitudinális vizsgálathoz, melyben az emelkedett FXIII-A szint nem befolyásolta a VTE kockázatát. Ebben a tanulmányban azonban az átlag

FXIII-A szint mind a nem VTE, mind a VTE egyénekben meghaladta a referencia tartomány felső határértéket (142% valamint 141%).

A FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus védő hatását a mélyvénás trombózis ellen először Catto és mtsai közölték. Azóta számos ellentmondó és megerősítő tanulmány került közzétételre, melyet két metaanalízis foglal össze. Mindkét metaanalízis kimutatta a Leu34 allél mérsékelt védő hatását a VTE ellen. A Leu34 allél hatását egyéb tényezők is befolyásolhatják. Egy korai tanulmányban a Leu34 allél jelenléte csak emelkedett fibrinogén koncentráció (>90%) mellett volt védő hatással a mélyvénás trombózis ellen és csak férfiakban. A polimorfizmus hatását a trombózis (artériás és vénás) kockázatára vizsgálták antiphospholipid szindrómás betegekben is. A FXIII-p.Val34Leu polimorfizmus egyik tanulmányban sem bizonyult védő hatásúnak a trombózis ellen. De la Red és mtsai közleményében azonban a Leu34 allél a trombózis ellen védelmet nyújtott, azokban a betegekben, akiknek a fibrinogén szintje a felső harmadban (>3,40 g/l) volt. Mindössze egyetlen tanulmány foglalkozott a FXIII-B polimorfizmusok és a VTE kapcsolatával. Ebben a tanulmányban a FXIII-B p.His95Arg polimorfizmus a VTE kockázati tényezőjének bizonyult.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A PhD tanulmány céljai:

1. Megvizsgálni az életkor, a testtömegindex (BMI), a dohányzás és a fibrinogén koncentráció hatását a FXIII aktivitás, FXIII-A₂B₂ és FXIII-B antigén szintekre férfiakban és nőkben egy nem idős, egészséges populációban.
2. Meghatározni a három FXIII polimorfizmus, FXIII-A p.Val34Leu, FXIII-B p.His95Arg, FXIII-B intron K C>G és ezek kombinációinak a hatását a FXIII szintekre egészséges személyekben.
3. Meghatározni a FXIII-B p.His95Arg and FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmusok hatását a CAD kockázatára.
4. A három FXIII polimorfizmus, FXIII-A p.Val34Leu, FXIII-B p.His95Arg, FXIII-B intron K C>G hatásának a vizsgálata a FXIII szintekre CAD betegekben.

5. Megvizsgálni a lehetséges interakciót a FXIII-B polimorfizmusok és a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus között a FXIII szintek és a CAD kockázat tekintetében.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Betegek és kontrollok

3.1.1. A FXIII szintek és polimorfizmusok vizsgálata egészséges egyéneken

Kétszázhatvannyolc látszólag egészséges, kelet-magyarországi fiatal és középkorú felnőtt egyént válogattunk be a tanulmányba. Ötvenhárom egyénnek volt mérsékelt magasvérnyomása (145/90 és 165/95 Hgmm között), és részesült terápiában, amit nem tekintettünk kizáró oknak. A 160 nő közül 19 szedett orális fogamzásgátlót és 36 volt menopauzában. Minden egyén esetében kiszámítottuk a BMI-t és rögzítettük a dohányzási szokásokat.

3.1.2. A FXIII szintek és polimorfizmusok vizsgálata CAD betegekben és klinikai kontrollokban

Hatszáznyolcvanhét egymást követően angiográfiás koronarográfia vizsgálatra felvett koronária betegség gyanús beteget vontunk be a tanulmányba, egyetlen központból (Kardiológiai intézet, Debreceni Egyetem, Debrecen, Magyarország) másfél év alatt. Azon betegek, akiknél $\geq 50\%$ -os szűkületet mutattak ki egy fő koszorúérben vagy annak egyik ágában, a koronária ateroszklerózis pozitív (CAS+), míg a nem, vagy kevésbé jelentős koronária szűkülettel rendelkező betegek a koronária ateroszklerózis negatív (CAS-) csoportba kerültek. Az MI jelenléte vagy hiánya alapján a betegeket az MI+ vagy MI- csoportba soroltuk. A MI diagnózis felállítása a Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction kritériumai szerint történt. A jelentős koronária szűkülettel nem rendelkező MI- betegek alkották a klinikai kontroll csoportot (CAS-MI-), ehhez hasonlítottuk a CAS és/vagy MI (CAS-MI+ CAS+MI-, CAS+MI+) alcsoportokat. A betegek egy kis csoportja (CAS-MI+) MI szenvedett el jelentős koronária szűkület nélkül. Ezen betegeknél a plakk nem okozott jelentős szűkületet, de a plakk ruptura okozhatta a MI-t. A csoport kis száma kizárt bármilyen érdemi statisztikai értékelést. A

tanulmányba populációs kontrollként kilencszázkilencvennégy, az általános magyarpopulációt képviselő egyént is beválasztottunk, a Magyar Családorvosi Morbiditás Sentinel programjából.

3.1.3. Etikai engedély

Minden résztvevő írásos beleegyezését adta, miután felvilágosítottuk a tanulmány céljairól. A kutatás a Debreceni Egyetem Regionális Etikai Bizottságának jóváhagyásával történt.

3.2. Laboratóriumi módszerek

A vérvétel éhgyomorra történt a könyökhajlati vénából antikoagulánst nem, vagy azt tartalmazó (etilén-diamin-tetraecetsavat vagy 1/10 térfogatú 0,109 M-os trinátrium-citrátot tartalmazó) vacutainer csőbe (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA). A szérum és a trombocita szegény plazma mintákat centrifugálást (2500g 20 perc) követően -80 °C-on tároltuk a mérések kivitelezéséig. A citrátos minták buffy coat rétegéből DNS-t izoláltunk QIAamp DNABlood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Németország) felhasználásával. A DNS-mintákat -70 °C tároltuk.

A FXIII aktivitás meghatározása az intézetünkben korábban kifejlesztett és a Reanal-ker kft., Budapest, Magyarország által forgalmazott egylépéses ammónia felszabaduláson alapuló kinetikai teszttel történt (REA-chrom FXIII kit). A mérés során a FXIII trombin és Ca^{2+} hatására aktiválódik, és keresztköti az amin szubsztrát glicin-etilésztert a specifikus oligopeptid szubsztrát glutamin donorjához. A reakció során ammónia szabadul fel, ennek mennyiségét glutamát dehidrogenáz által katalizált NADPH indikátor reakcióban monitorozzuk. A NADPH fogyásának sebessége egyenesen arányos a FXIII aktivitással, mérése spektrofotometriásan, 340-en nm mért abszorbancia csökkenés meghatározásával történik. A NADPH - NADP⁺ átalakulás a mérés 5 és 10 percében lineáris. A FXIII-független ammónia termelő reakciók kompenzálására mintánként egy vak mérést is végeztünk.

A plazma FXIII aktivitás meghatározásához elsőként liofilizált NADPH-t oldottunk 3 mL desztillált vízben. A NADPH-koncentráció az oldatban 0,8 mmol/L. A liofilizált Aktivátor reagens a NADPH oldatban került feloldásra. A Detektor reagenst 3 ml desztillált vízben oldottuk fel, és a két reagens egyenlő térfogatú keverékét képeztük. Ebből a

keverékből készítettük a minta és a vak reagens munkaoldatokat. 1 térfogat vak reagens munkaoldathoz 1/20 térfogatrész Inhibitor (23,2 mmol/L 2-jódacetamid és 5,8 g/L Na-azid) adtunk. 1 térfogat minta reagens munkaoldathoz 1/20 térfogatrész stabilizátor oldatot (5,8 g/L Na-azid) kevertünk. A keverék végső összetétele: 20 kU/L trombin, 10 mmol/L CaCl₂, 5 mg/L polibrén, 2 mmol/L fibrin inhibitor tetrapeptid, 0,1 mmol/L dithiothreitol, 4,4 mmol/L α₂PI(1-12) peptid szubsztrát, 5 mmol/L Glicin-etilészter, 0,35 mmol/L NADPH, 20 kU/L GluDH, 0,6 mmol/L ADP, 7 mmol/L-α-ketoglutarát és 5,4 g/L szarvasmarha szérum albumin; 60 mmol/L HEPES pufferben (pH 7,7).

A vizsgálat során 250 μL minta vagy vak reagenst adtunk 25 μL plazma mintához. A reakció során a 340 nm-en bekövetkező abszorbancia csökkenést monitoroztuk 10 percen át 37 °C-on. A reakció első 5 percében a mintában jelenlevő endogén ammónia lebomlik és a FXIII teljes mértékben aktiválódik. Az 5. és a 10. perc között az abszorpció változás mérésével a minta és vak reagens reakció ΔA/min értékét kiszámoltuk. A minta reagens ΔA/min értékéből kivontuk a vak reagens a ΔA/min értékét. A kalibráláshoz plazma pool mintát használtunk (20 egészséges egyén), ennek az aktivitását 100%-nak tekintettük. A FXIII aktivitást a plazma pool százalékában fejeztük ki. A módszer 300% FXIII aktivitásig lineáris, 200 μmol/L alatti bilirubin koncentráció és 7,5 mmol/L triglicerid koncentráció a mérést nem zavarja.

A FXIII-A₂B₂ és tFXIII-B antigén koncentráció meghatározása egylépéses szendvics ELISA módszerrel történt. A FXIII-A₂B₂ antigén meghatározáshoz a hígított plazma mintát, a peroxidázzal jelölt monoklonális anti FXIII-A antitestet és biotinált monoklonális anti-FXIII-B (capture) antitestet adtunk a streptavidin bevonatú microplate lyukaiba. A streptavidin bevonatú microplate-hez kötődő komplex kvantitálása a peroxidáz aktivitás mérésével történt. Csak a FXIII-A₂B₂ adott reakciót, a szabad A és B alegység nem adtak.

A kalibrátor (plazma pool), a kontroll és a betegek plazma mintáit 1:1000-re hígítottuk a hígító pufferrel (0,5 mol/L NaCl, 3 mmol/L KH₂PO₄, 12 mmol/L Na₂HPO₄, 0,05% Polysorbate 20, 5 g/L szarvasmarha szérum albumin). 70 μL biotinált monoklonális anti-FXIII-B antitestet adtunk a streptavidin bevonatú microplate lyukaiba, majd hozzámértük a 70 μL hígított mintát és a 70 μL torna-peroxidázzal jelölt anti FXIII-A antitestet. A microplate lemezt szobahőmérsékleten 1 órán át 300 fordulat/perc rázatás mellett inkubáltuk. Az inkubációt követően 4-szer mostuk a lemezt 300 μL/lyuk mosó pufferrel (0,14 mol/l NaCl, 3

mmol/L KH_2PO_4 , 12 mmol/L Na_2HPO_4 , 0,05% Polysorbate 20). A következő lépés a 200 μL szubsztrát (3,3',5,5'-tetramethylbenzidin) hozzáadása volt, melyet 30 perc inkubáció követett szobahőmérsékleten. Az enzimreakciót 50 μL 2 mol/L H_2SO_4 hozzáadásával állítottuk le. A keletkezett színes komplex, mérése 450 nm-en, egy ELISA-olvasón történt. A méréseket duplikátumban végeztük, és az átlag abszorbancia értéket használtuk fel a FXIII-A₂B₂ antigén koncentráció számításához. A FXIII-A₂B₂ antigén koncentrációt a plazma pool FXIII-A₂B₂ antigén koncentrációjának százalékában fejeztük ki. A tFXIII-B antigén koncentráció meghatározása hasonló módszerrel történt. Ebben az esetben a jelölő és elfogó antitestek a különböző FXIII-B epitópok ellen irányultak. Az antitestek mind a szabad, mind a komplexben levő FXIII-B-vel egyformán reagáltak.

A Clauss által leírt fibrinogén ráta módszert használtuk a fibrinogén koncentráció meghatározására (Fibrinogén LX kit, Reanal-ker kft., Budapest, Magyarország). Ebben a módszerben az emelkedett koncentrációjú trombin okozta alvadékképződés egyenesen (lineárisan) arányos a fibrinogén koncentrációval egy relatív tág tartományon belül (0,8-6,0 g/L). A dilúciós pufferhez adott heparin antagonistá polibrén lehetővé teszi a fibrinogén koncentráció mérését terápiás heparin koncentráció jelenlétében. A lipid paraméterek, a C-reaktív protein (CRP), és a homocisztein koncentrációk meghatározását rutin laboratóriumi módszerekkel végeztük.

3.3. A FXIII-A és FXIII-B alegység polimorfizmusok meghatározása

A FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus meghatározása Shemirani és mtsai. által leírt olvadáspont görbe alapú fluoreszcencia rezonancia energia transzfer detektálással (FRET) történt. A FXIII-B p.His95Arg and FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmusok meghatározására egy dual color kísérleti protokoll kifejlesztése történt meg, amely lehetővé teszi mindkét polimorfizmus meghatározását egyetlen reakció keverékből. A primereket Integrated DNA Technologies-től (Leuven, Belgium) vásároltuk, a próbákat a Kromat Ltd. (Budapest, Magyarország) szintetizálta.

A primerek tervezésekor fontos szempont volt, hogy a FXIII-B p.His95Arg (amplifikált DNS szekvencia 228 bp) és a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G (amplifikált DNS szekvencia 226 bp) ampliconok hasonló méretűek legyenek. A hasonló hossz lehető

teszi a két DNS szakasz egy közös PCR reakcióban történő amplifikálását. A FXIII-B p.His95Arg szenzor szekvenciája a mutáns nukleotidot tartalmazó DNS szekvenciával, míg a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G szenzor a vad típusú DNS-szekvenciával komplementer. A szenzorok a 3' végükön fluoreszcein jelölést kaptak, míg az anchorok a FXIII-B p.His95Arg esetén LC610, a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G esetén a LC670 jelölést kaptak. Az anchorok és a szenzorok közötti távolság 3, illetve 4 bp. Az anchorok esetében a festékek kiválasztásánál szempont volt, hogy a fluoreszcencia rezonancia energia transzfer létrejöhesse, amennyiben a DNS szekvencián az anchor és szenzor egymáshoz elég közel kerül. Az átfedés a két festék (LC610 és LC670) spektrumában minimális.

A polimeráz lánreakciót (PCR), a FRET detektálást és az olvadási görbe analízist egy LightCycler® 480 real-time PCR-készüléken (Roche, Mannheim, Németország) végeztük, a PCR reakciókhoz egy 96 lyukú lemezt használtunk. A reakciókeverék végső térfogata 20 μL volt, mely tartalmazott 5 μL DNS mintát (20-100 ng/L), 10 $\mu\text{mol/L}$ -t minden egyes primerből, 2 $\mu\text{mol/L}$ -t minden próbából, 4 μL Genotyping Master mixet (Roche) és 1 μL 25 mM MgCl_2 -t (Roche). Minden mérés során a polimorfizmusokra pozitív (DNS szekvenálással megállapítva) és negatív kontrollt (DNS-t nem tartalmazó reakciómix) is mértünk. A mérés egy denaturálással kezdődött 95 °C-on 10 percre, majd 40 db ciklus következett: denaturálás 95 °C-on 10 másodpercre, hibridizáció 51 °C-on 10 másodpercre és extenzió 72 °C-on 10 másodpercre. Az olvadási görbe analízisének egy ciklusa 95 °C-on 1 percre, 45 °C-on 1 percre, majd a hőmérséklet növekedése 75 °C-ig 0,06 növekedési értékkel °C/s zajlott. Eközben a fluoreszcens jelet detektáltuk mind a LC610, mind a LC670 esetén. Az olvadási görbék deriváltjait használtuk az elemzéshez.

3.4. Statisztikai analízis

A vizsgált változók eloszlását a Kolmogorov-Szmirnov és a Shapiro-Wilk tesztekkel vizsgáltuk. A normál eloszlású változók esetén az átlag \pm SD-t, míg a nem normál eloszlású változók esetén a mediánt és az interkvartilis tartományt adtuk meg. Az alcsoportok közötti különbségek elemzése normál eloszlás esetén a Student t teszttel, míg nem-normál eloszlás esetén a Mann-Whitney teszttel történt. A kategória frekvencia értékeket a χ^2 -teszttel hasonlítottuk össze. A két változó közötti lineáris kapcsolat erősségének karakterizálásához a Pearson-féle korrelációs együtthatót állapítottuk meg. Többszörös lineáris regresszió elemzést

végeztünk a FXIII független paraméterekre történő korrigáláshoz. Az átlag FXIII szintbeli eltérés szignifikancia vizsgálata ANOVA teszttel történt, Bonferroni korrekció segítségével. Az egyes polimorfizmusok hatását logisztikus regressziós modellben elemeztük, esélyhányadossal (OR) és 95%-os konfidencia intervallummal (CI) jellemeztük. A korrigált OR számításakor a modellben minden független változót figyelembe vettünk a polimorfizmus mellett. A 0,05 alatti p-értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. A statisztikai vizsgálatokat SPSS (22.0) szoftver (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) segítségével végeztük. A szinergia faktor számítása Cortina-Borja-és mtsai. által leírtak alapján készült.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A FXIII szintek és polimorfizmusok egészséges egyénekből

4.1.1. A tanulmányban résztvevő populáció jellemzése

A férfiak és a nők is hasonló életkorú voltak, a férfiakban magasabb volt a jelenleg is dohányzók aránya (29%) mint a nők körében (22%), de a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns. Férfiakban jelentősen magasabb volt a BMI és valamivel alacsonyabb a fibrinogén szint, mint nőkben. A vizsgált populációban sem a FXIII-A₂B₂ antigén szint, sem a FXIII aktivitás nem mutatott nembeli különbséget, miközben a tFXIII-B koncentráció szignifikánsan magasabb volt férfiakban, mint nőkben.

A három vizsgált polimorfizmus esetén a genotípusok megoszlása a Hardy-Weinberg egyensúlyt követte az összes alcsoportnál és nem tért el jelentősen az 1000-Genom projekt adataitól az európai populációkra vonatkozóan (www.internationalgenome.org). A ritka allél gyakoriságok nem mutattak nembeli eltérést a vizsgált populációban.

4.1.2. A nem genetikai paraméterek hatása a FXIII szintekre

A kor pozitívan és szignifikánsan korrelál mind a három FXIII paraméterrel a férfiakban és a nőkben egyaránt. A viszonylag gyenge korreláció a BMI és a FXIII aktivitás, illetve a FXIII-A₂B₂ antigén szint között korrigálást követően eltűnt, de a tFXIII-B antigén szint esetén megmaradt. A kor és a fibrinogén szintre történő korrigálás után az aktív dohányzásnak nem volt jelentős hatása a FXIII aktivitás és FXIII antigén szintre egyik

nemben sem. A fibrinogén plazma koncentrációja szignifikánsan korrelált a FXIII aktivitás és FXIII antigén koncentrációval nemtől független módon. Ez nem meglepő, mivel a plazmában gyakorlatilag minden FXIII, még a szabad FXIII-B is fibrinogénhez kötve kering. A tFXIII-B antigén szint és a FXIII-A₂B₂ antigén szint, valamint a FXIII aktivitás között erős szignifikáns korreláció volt kimutatható.

4.1.3. A FXIII polimorfizmusok és ezek kombinációinak a hatása a FXIII szintekre

A FXIII-Leu34 allél hordozása nem befolyásolta a FXIII aktivitást, és a tFXIII-B szintre sem volt befolyása, amint azt korábban Balogh és mtsai. kimutatták. A FXIII-A₂B₂ antigén szintekben egy enyhe csökkenést találtunk a Leu34 hordozó egyénekben, alacsony statisztikai jelentőséggel. Ha azonban a FXIII-B intron K polimorfizmus hatását kizártuk, azaz a Leu34 allél hatását külön vizsgáltuk az intron K C homozigótákban és külön az intron K G hordozókban, ez a csekély szignifikáns hatás is eltűnt.

A nem korrigált FXIII aktivitás és tFXIII-B szint nem tért el jelentősen a különböző FXIII-B p.His95Arg genotípus csoportok között, bár egy növekvő tendencia látható a ritka allélt hordozókban. Csak a FXIII-A₂B₂ antigén szint esetén volt statisztikailag szignifikáns az emelkedés. Másrészt, korrigálás után a FXIII paraméterekben jelentkező emelkedés minden esetben statisztikailag szignifikáns lett. Megvizsgáltuk a FXIII-B p.His95Arg polimorfizmus hatását külön-külön, az intron K C allélra vad típusú és az intron K G allélt hordozó egyénekben. Ebben az esetben az Arg95 allél hatása csak az intron K G allélt hordozókban volt jelen, de a csoport alacsony száma miatt az emelkedés nem volt szignifikáns.

Az intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus robusztus hatással van a FXIII szintekre. Az intron K G allélt hordozó egyénekben a FXIII aktivitás, FXIII-A₂B₂ antigén és tFXIII-B antigén szint szignifikánsan alacsonyabb, mint a vad típusú egyénekben. A különbség erősen szignifikáns volt a nem korrigált, és a korrigált adatok összehasonlítás során egyaránt. Ez utóbbi esetben a FXIII aktivitás és FXIII-A₂B₂ antigén szint korrekciója életkorra és a fibrinogén koncentrációra történt meg, míg a tFXIII-B antigén szint esetén életkorra, nemre, BMI-re és fibrinogén koncentrációra korrigáltunk. Az intron K G allél FXIII szint csökkentő hatása független volt a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus jelenlététől; az intron K G allél FXIII aktivitás és FXIII komplex csökkentő hatása jelen volt mind a Val34 homozigóta, mind a Leu34 hordozókban. A lehetséges genotípus kombinációk közül a két ritka allél együttes jelenléte volt a legerősebb hatással a FXIII aktivitás és FXIII-A₂B₂ szintekre. A különbség a

Val34-intron K C és a Leu34 hordozó-intron K G hordozó csoport közt volt a legnagyobb, ami a két ritka allél közötti szinergista hatást sugallja. Mint már említettem a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus nem volt hatással a tFXIII-B antigén szintre. Az intron K G allél hatást nem befolyásolta a FXIII-B p.His95Arg polimorfizmus, az intron K G allél FXIII szintekre gyakorolt hatása független volt a FXIII-B p.His95Arg alléljainak jelenlététől. A His95 homozigótákban az intron K G allél jelenléte szignifikánsan csökkentette a FXIII szinteket, az Arg95 hordozókban az alacsony esetszám miatt a hatás nem volt szignifikáns.

4.2. FXIII és a koszorúér betegség

4.2.1. A vizsgált populáció jellemzése

A férfiak aránya szignifikánsan magasabb volt a CAS+ és/bagy MI+ betegekben. A klinikai kontroll (CAS-MI-) csoporthoz képest a betegek a CAS+MI- és CAS+MI+ csoportokban 5-7 évvel idősebbek voltak. A diabetes mellitus sokkal gyakoribb volt a beteg csoportokban, mint a CAS-MI- csoportban. Az aktív dohányzás gyakorisága nem különbözött a különböző csoportokban. A trigliceridek és apoB koncentráció jelentősen emelkedett, a HDL-C koncentráció jelentősen csökkent volt a CAS+MI- és CAS+MI+ csoportokban. Az apoA-I koncentráció csökkenés valamint a Lp(a) és fibrinogén koncentráció emelkedés csak a CAS+MI+ csoportban volt szignifikáns. A homocisztein koncentráció szignifikánsan magasabb volt a beteg csoportokban a CAS-MI csoporthoz képest. A FXIII aktivitás és antigén szint gyakorlatilag minden csoportban azonos volt. A vizsgált populáció többszörös lineáris regressziós analízis alapján, a FXIII szinteket befolyásolta a dohányzás, a szérumszékességi koleszterin és fibrinogén koncentráció. A különböző csoportokban a magasvérnyomás-terápiában részesülők aránya egységesen 59% és 68% között volt. A kezelés időtartamáról, intenzitásáról és hatékonyságáról csak meglehetősen bizonytalan adataink voltak, így ezeket az adatokat nem vettük be a tanulmányba és a későbbi elemzésekbe.

A populációs kontroll (PK) csoportban 45% férfi és 55% nő volt. A medián életkor 48 év (interkvartilis tartomány: 34 - 57 év) volt. A beteg csoportok PK-hoz történő hasonlításakor, az OR-ok számításakor e fenti két paraméterre korrigáltunk.

4.2.2. A FXIII-B polimorfizmusok hatása a CAD kockázatára

A ritka allél frekvencia mind a p.His95Arg, mind az intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus esetén gyakorlatilag azonos volt a CAS-MI- és PK csoportokban és hasonló az 1000 Genom Projekt adataihoz. A genotípusok megoszlása mindkét kontroll csoportban Hardy-Weinberg egyensúlyban volt. Az allél frekvencia nem tért el jelentősen a beteg csoportokban a két kontroll csoporttól.

Az Arg95 jelenléte nem befolyásolta a CAS és MI kockázatát. Az intron K polimorfizmus esetén az OR-k minden beteg csoportban 1,0 alatt voltak, de a védő hatás nem volt statisztikailag szignifikáns. A független változókra történő korrekció után hasonló eredményeket kaptunk. Az OR abban az esetben sem változott, amikor külön-külön számoltuk a férfiakban és nőkben. A CAS+ és/vagy MI+ csoportokat a klinikai kontroll csoporttal hasonlítottuk össze, és ennek megfelelően számoltuk ki az OR-t. A PK csoporttal történő összehasonlítás hasonló eredményeket adott.

4.2.3. A FXIII-B polimorfizmusok hatása a CAD kockázatára emelkedett fibrinogén koncentrációval rendelkező egyéneknél

Egy korábbi tanulmányban a munkacsoportunk kimutatta, hogy emelkedett fibrinogén koncentrációjú egyéneknél a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus csökkenti a CAS és MI kockázatát. Jelen tanulmányban a FXIII-B polimorfizmusok hatását vizsgáltuk a CAD kockázatára felső harmadban levő fibrinogén koncentrációval rendelkező egyéneknél. A kombinált (a betegek és klinikai kontroll csoportok) kutatási csoport adatai használtuk a fibrinogén koncentráció felső harmad (>4,3 g/l) alsó határának a kiszámításakor. A fibrinogén koncentráció felső harmadban levő egyéneknél a p.His95Arg polimorfizmusnak nem volt hatása, de az intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus szignifikáns védő hatást biztosított a CAS és MI ellen. A CAS+MI- csoportban a védő hatás csak korrigálás után lett statisztikailag szignifikáns.

4.2.4. A FXIII-A p.Val34Leu és FXIII-B polimorfizmusok kombinált hatása a CAD kockázatára

A kombinált FXIII-A Leu34 és FXIII-B Arg95 jelenlét nem gyakorolt semmilyen hatást a CAD kockázatára emelkedett fibrinogén koncentrációjú betegekben. A FXIII-A Leu34 allél és FXIII-B intron K G allél vad genotípusú egyénekhez (Val34 intron K C) történő összehasonlításában az egyenkénti és együttes vizsgálatkor egyaránt, egy érdekes kapcsolatra derült fény. Önmagában egyik polimorfizmus sem biztosított szignifikáns

védelmet a CAS és/vagy MI ellen emelkedett fibrinogén koncentrációjú betegekben. A két ritka allél együttes jelenléte azonban szignifikánsan és nagy mértékben csökkentette a MI kockázatát. Korrigálás után a MI nélküli CAS kockázatát is szignifikánsan csökkentette. A két polimorfizmus közötti, a CAD kockázatát csökkentő szinergikus hatást a szinergia faktor számításával sikerült bizonyítani. A MI+ betegekben a kapott szinergia faktor szignifikánsan kisebb volt, mint 1 és az alacsony érték egy hatásos interakcióra utal, egy jelentős védő hatásra a FXIII-A Leu34 allélt és FXIII-B intron K G allélt is hordozó egyénekben.

4.2.5. Az FXIII-B polimorfizmusok hatása a FXIII szintekre

A teljes vizsgálati populációt tekintve az Arg95 allél jelenléte enyhe, de szignifikánsan magasabb FXIII szintekkel társult a vad típusú egyénekhez képest. A különböző alcsoportok vizsgálatakor hasonló tendencia volt megfigyelhető, de a klinikai kontroll csoportban mért FXIII aktivitás kivételével a különbségek nem érték el a statisztikai szignifikancia szintjét. Ennek valószínűleg az egyes alcsoportok viszonylag alacsony egyedszámából adódó alacsony statisztikai erő lehet az oka. Az intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus jelenléte szignifikánsan csökkentette a FXIII szinteket a vad típusú egyénekhez képest. Ez a hatás nem csak a teljes vizsgálati populációban, de az egyes alcsoportokban is szignifikáns volt. A korrigált és nem korrigált FXIII szintek vizsgálatának eredménye megegyezett.

Az intron K G allél szignifikánsan csökkentette a FXIII szinteket a FXIII-A Leu34 polimorfizmus jelenlététől függetlenül a teljes vizsgálati populációban és a CAS+ csoportban egyaránt. A MI+ betegekben hasonló tendencia volt megfigyelhető, de a FXIII csökkenés mértéke csak akkor lett szignifikáns, ha az intron K G és FXIII-A Leu34 allél együtt volt jelen. A FXIII-A Val34 allélre homozigóta és az intron K G allélt hordozó betegekhez képest a FXIII-A Leu34 és intron K G allélok hordozó egyének FXIII szintje alacsonyabb volt, de a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns.

4.2.6. Az alacsony FXIII szintek hatása a CAD kockázatára

Mivel a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmussal együtt jelentősen csökkentette a FXIII szinteket kíváncsiak voltunk, hogy az alacsony FXIII szinteknek van-e hatása a CAD kockázatára. A kérdés megválaszolására a FXIII szintek alsó harmadában levő egyéneket hasonlítottuk a FXIII szintek felső harmadába tartozó egyénekhez. A teljes vizsgálati populációban az alacsony FXIII szinteknek nem volt hatása a CAS és MI kockázatára. A fibrinogén felső harmadba tartozó betegekben azonban a

CAS OR-k 1,0 alattiak voltak, de az alacsony FXIII védő hatása statisztikailag nem volt szignifikáns, míg alacsony FXIII aktivitás vagy antigén szint szignifikánsan csökkentette a MI kockázatát.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. A FXIII szintek és polimorfizmusok egészséges egyénekből

Ariens és mtsai. nőkben magasabb FXIII-A antigén koncentrációt és hasonló FXIII aktivitást közöltek. Jelen tanulmányunkban a FXIII-A₂B₂ antigén szintet határoztuk meg; habár a plazmában a FXIII-A 99%-a komplexet képez a FXIII-B-vel, a két paraméter összehasonlítható. Az általunk közölt eredmények látszólag ellentmondanak a korábban közölteknek. Jelentős különbség volt azonban a két tanulmányban résztvevő nők életkorát tekintve. Esetünkben a nők medián életkora 39 év volt, és csak 22,5% volt menopauzában, míg az előző tanulmányban a nők átlagéletkora 65 év volt. Bár nincs konkrét adat erre vonatkozóan, valószínűsíthető, hogy az előző tanulmányban résztvevő nők nagy része a menopauzán túl volt. Ez az eltérés támogatja Ariens és mtsai. javaslatát, miszerint a menopauza és az ösztrogén pótló terápiák hatását indokolt lenne megvizsgálni a FXIII szintekre, különösen a FXIII-B antigén szintre.

Az életkor pozitívan és szignifikánsan korrelál mind a három FXIII paraméterrel, a férfiakban és nőkben egyaránt. Hasonló pozitív korrelációt írtak le Ariens és mtsai. az életkor és a FXIII alegység antigén szintek között, de nem az életkor és a FXIII aktivitás között. Az eltérés nagy valószínűséggel módszertani különbségekből ered. Az általunk használt módszer esetén a FXIII-t csak részben aktiválja a trombin. A trombin által történt FXIII aktiválás rátáját, és ezáltal a mért FXIII aktivitást nagyban befolyásolja FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus jelenléte. A polimorfizmus viszonylag magas frekvenciája miatt a kaukázusi populációban, a FXIII aktivitás meghatározása az adott módszerrel egy széles spektrumot eredményez a normál populációban, és gyengén korrelál a FXIII-A antigén szinttel. Valóban, az általunk közölt tanulmányban a katalitikus FXIII-A antigén szint és a FXIII aktivitás között csak gyenge korreláció volt megfigyelhető, a determinációs együttható (cd, r²) csak 0,02 volt. Az általunk használt FXIII aktivitás metodikában a FXIII teljesen aktiválva volt, és a mért

aktivitás független volt a p.Val34Leu polimorfizmus jelenlététől. Ezen módszer használatával egy erős korreláció volt kimutatható a FXIII-A₂B₂ antigén és FXIII aktivitás között (cd: 0,845, p<0,001), és a FXIII aktivitás - akárcsak a FXIII-A₂B₂ antigén szint - jelentősen korrelált az életkorral.

A tFXIII-B antigén szint és a FXIII-A₂B₂ antigén szint valamint a FXIII aktivitás közötti erős korreláció nem meglepő. Hasonlóan erős korrelációt a két FXIII alegység között már korábban is közöltek. A FXIII-A antigén szint alacsony a FXIII-B hiányos betegekben, míg a FXIII-A pótlás a FXIII-A hiányos betegeknél megnöveli a tFXIII-B plazma koncentrációját. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a két érintett alegység részt vesz egymás plazma koncentrációjának a szabályzásában, befolyásolva a szintézist, szekréción és a plazmatikus keringés élettartamát.

A nem-korrigált FXIII aktivitás és tFXIII-B antigén szintje nem tér el jelentősen a különböző FXIII-B p.His95Arg genotípusok között, bár a ritka allélt hordozókban egy emelkedő tendencia volt megfigyelhető. Ez az eredmény hasonló egy korábbi vizsgálat eredményeihez, ott egy kombinált 192 fős egészséges és 252 vaszkuláris beteg csoportot vizsgáltak. A tanulmányban Komanasin és mtsai. nem találtak különbséget a FXIII aktivitás, FXIII alegység antigének és a FXIII-A₂B₂ antigén szintek között a p.His95Arg genotípus esetében. A mi esetünkben azonban a ritka Arg95 allélt szignifikánsan magasabb komplex FXIII-A₂B₂ antigén koncentrációt okozott. Továbbá korrigálás után az emelkedés mindhárom FXIII paraméter esetén statisztikailag szignifikáns lett.

Egy korábbi tanulmányban kimutatták, hogy a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus csak egy kis része a FXIII-A₂B₂ 47%-os örökletességének. Egy másik tanulmányban a FXIII aktivitást nem befolyásolta a Leu34 allél jelenléte. A mi eredményeink megerősítik ezeket az adatokat, a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus nem befolyásolta a FXIII aktivitást és tFXIII-B antigén szintet. A FXIII-A₂B₂ antigén szint kismértékű, statisztikailag szignifikáns, csökkenése a Leu34 hordozókban eltűnt, miután a FXIII-B intron K polimorfizmus hatását kizártuk.

Tudomásunk szerint ez az első tanulmány, ahol a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus hatását vizsgálták a FXIII szintekre egészséges egyének vagy CAD betegekben. Egészséges személyekben a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus nagy hatással volt a FXIII szintekre. A FXIII intron K G allélt hordozókban a FXIII aktivitás, a

FXIII-A₂B₂ antigén és tFXIII-B antigén is lényegesen alacsonyabb volt, mint a polimorfizmusra vad típusú egyéneknél. A különbség jelentős volt, mind a nem-korrigált, mind a korrigált összehasonlításban. A hatás független volt a FXIII-A p.Val34Leu or FXIII-B p.His95Arg polimorfizmusok jelenlététől.

Érdekes módon a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G és FXIII-A p.Val34Leu kombinációk közül a két ritka allél együttes jelenléte volt a legnagyobb hatással a FXIII aktivitás és FXIII-A₂B₂ antigén szintekre. A különbség a Val34-intron K C és a Leu34-intron K G hordozók között volt a legmagasabb, ami egy szinergista hatást sugall a két ritka allél között.

A FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus okozta FXIII szint csökkenés oka nem ismert. Plazmában FXIII-A₂ és FXIII-B₂ egy szoros komplexet képez, és a két alegység közötti interakció $K_d 10^{-10}$ M tartományban található. A FXIII-B alegységéhez való kötődés rendkívül fontos a katalitikus FXIII-A dimer keringésben maradásához. A súlyos FXIII-B hiányos betegekben és a FXIII B knockout egerekben a FXIII-A szint jelentősen csökkent. Az emberi méhlepényből izolált FXIII-A₂ koncentrátum FXIII-B hiányos betegeknek történt beadása után a FXIII-A gyorsan eltűnt a plazmából. Abban az esetben, amikor a FXIII-B hiányos egerek rekombináns FXIII-B kaptak, a FXIII-A, a fibrin kereszkötés és a transzglutamináz aktivitás megnövekedett a plazmában, ami azt jelzi, hogy a FXIII-B segítette a FXIII-A szintek megtartását a vérkeringésben. FXIII-B hiányában a FXIII-A₂ rövid felezési ideje lehetséges, hogy a plazmában bekövetkező spontán, nem proteolitikus aktiváció eredménye. Lehetséges, hogy az utolsó 10 C-terminális aminosav cseréje, valamint az extra 15 aminosav a C-terminálison az intron K mutánsokban befolyásolja a két alegység közötti interakciót, vagy a FXIII-A₂B₂ eliminációját a keringő vérből. Az előbbi feltevésnek ellentmond, hogy a FXIII-A-t kötő epitóp a FXIII-B N-terminálisának első két sushi doménjára lokalizált. Kimutatták, hogy a plazma a szabad FXIII-B₂ és a FXIII-A₂B₂, egyaránt fibrinogénhez kötve kering, és a FXIII-B 1. és 10. sushi doménjei is szükségesek a kötődéshez. A fenti eredmények alapján további kísérletek szükségesek a FXIII-B splice variánsainak a plazma FXIII szintekre gyakorolt hatásának a tisztázásához.

5.2. FXIII és a koszorúér betegség kockázata

Miután Kohler és mtsai. kimutatták a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus védő hatását a MI ellen, a következő tanulmányok ellentmondó eredményeket közöltek. Azt feltételezték, hogy gén-gén és gén-környezet kölcsönhatások állhatnak - legalábbis részben - a különböző populációkban különböző laboratóriumok által nyert eredmények háttérében. Ugyanezt erősítette meg egy, a kutatócsoportunk által közölt tanulmány, amely kimutatta, hogy a Leu34 allél csak emelt fibrinogén koncentráció mellett csökkenti a betegek CAD kockázatát. Végül a Leu34 allél védő hatását a VTE és CAD ellen két metaanalízisben erősítették meg. Jelen kutatás fő célja a FXIII-B polimorfizmusoknak a CAD kockázatára kifejtett hatásának a vizsgálata volt.

A FXIII-A p.His95Arg vagy FXIII-B intron K polimorfizmusok ritka alléljainak a hordozása nem változtatta meg a CAD kockázatát, azonban az intron K polimorfizmus statisztikailag nem szignifikáns (OR-k a 0,73-0,78 tartományban) mértékben csökkentette a CAD kockázatát. A munkacsoportunk korábbi tanulmányában bebizonyítottuk, hogy a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus védő hatása a MI ellen csak a magas fibrinogén koncentráció esetén jelentkezik. A FXIII-A Leu34 allélt védő hatása a CAD ellen a magas fibrinogén koncentráció esetén összefügghet a polimorfizmus fibrinogén koncentráció függő hatásával a fibrinháló szerkezetére. Emelkedett fibrinogén szint esetén a Leu34 homozigótákban a képződő alvadékban a fibrin háló szerkezete lazább, vastagabb fibrin szálakkal és fokozott permeabilitással, míg alacsony fibrinogén koncentráció mellett a fibrinháló vékonyabb és sűrűbb fibrinszálakból állt, csökkent permeabilitással. Hasonlóan a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmushoz az intron K G allél védő hatása a CAD ellen csak emelkedett fibrinogén koncentrációnál jelentkezett; a korrigált OR körülbelül 60%-ra csökkent a CAS+MI-, CAS+MI+, CAS+ és MI+ csoportokban. Meg kell jegyezni, hogy a dohányzás fontos szabályzója a fibrinogén szintnek. Munkacsoportunk is kimutatta, hogy az aktív dohányosoknak szignifikánsan magasabb volt a medián fibrinogén szintje (4,21 g/L, interkvartilis tartomány: 3,53-5,08), mint a nem dohányzó egyéneké (3,85 g/L, interkvartilis tartomány: 3,16-4,60; $p < 0,001$). Emiatt az eredmények értékelésekor a dohányzásra és a többi kofaktorra is korrigáltunk. A korrigált eredmények azt mutatják, hogy a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus védő szerepe független a vizsgált szív- és érrendszeri kockázati tényezőktől.

A gén-környezet kölcsönhatások mellett a gén-gén kölcsönhatások is módosíthatják a CAD kockázatát. Egy korábbi tanulmányban leírták, hogy a FXIII-A Leu34 és a FXIII-B Arg95 allélek együttes jelenléte csökkentette a nem halálos MI kockázatát menopauzában levő nőkben. A mi tanulmányunkban hasonló interakciót nem sikerült kimutatni. Ezzel ellentétben, a FXIII-A p.Val34Leu and FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmusok közötti kölcsönhatás vizsgálatakor meglepő interakciót találtunk a két polimorfizmus között. Abban az esetben, ha a két polimorfizmusra vad típusú egyénekhez viszonyítottunk, az intron K G védő hatása eltűnt a Leu34 allél hiányában. Az eredmények azt sugallják, hogy az intron K G allél védő hatása a betegek azon populációjának köszönhető, akik a FXIII-A Leu34 allélt is hordozzák. A FXIII-A polimorfizmus hiányában a FXIII-B intron K G allélnak nincs védő hatása. Úgy tűnik hasonló a helyzet a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus védő hatásával is. Egy korábbi, nagyobb egyedszámú tanulmányban a Leu34 hordozókban jelentősen csökkent a MI kockázata azokban a betegekben, akik fibrinogén szintje a felső kvartilisban volt (OR: 0,41, 95% CI: 0,18-0,93). A jelen tanulmányban is csökkent a MI kockázata az emelkedett fibrinogén szinttel rendelkező Leu34 hordozókban (OR 0,61, 95% CI: 0,33-1,12, nem korrigált érték). A Leu34 allél védő hatása azonban csak az intron K G allél jelenlétében volt szignifikáns. A szinergia faktor számítások kimutatták a két polimorfizmus közötti szinergista hatást a CAD elleni védelemben.

A FXIII szintek és az artériás vagy vénás trombólis közötti kapcsolat egy összetett kérdés, amelyet számos egyéb faktor is befolyásol. Az emelkedett FXIII szintek jelentős rizikófaktorai a MI-nak és a perifériás artériás betegségnek nőkben, de nem férfiakban. Kimutatták, hogy a FXIII-A Leu34 allél jelenléte homozigóta formában csökkentette a FXIII szinteket CAS+ és MI+ betegekben. Az Arg95 allélnak csak csekély hatása volt a FXIII aktivitás és FXIII-A₂B₂ antigén szintekre. A klinikai kontroll csoportban egy kismértékű FXIII aktivitás emelkedés volt megfigyelhető, de a CAD csoportokban nem. Ezzel szemben a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus FXIII szintekre kifejtett hatása jelentős volt. A G allél jelenléte szignifikánsan alacsonyabb FXIII aktivitás és FXIII-A₂B₂ antigén szintet eredményezett minden csoportban. Mivel a FXIII-B intron K c.1952+144 G allél hordozása egyenletesen csökkentette a FXIII aktivitás és antigén szintet, és a csökkenés akkor volt a legkifejezettebb, amikor az intron K G és a FXIII-A Leu34 allélek együttesen voltak jelen, vélelmezhető, hogy a két ritka allél védő hatása összefügg a csökkent FXIII szintekkel. A feltevést, hogy a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus, a FXIII-A p.Val34Leu

polimorfizmussal együtt okozza a jótékony hatását a FXIII szintek csökkentésével, megerősítette az alsó harmadban levő FXIII szintek védő hatása a MI ellen.

A jelen, FXIII szintek és a CAD kockázatát vizsgáló tanulmánynak számos korlátja van, beleértve az eset-kontroll tanulmányok általános korlátait is. Ez utóbbi probléma leküzdésére laboratóriumunkban egy prospektív kohorsz vizsgálatot indítottunk a FXIII-B polimorfizmusok MI kockázatára kifejtett hatás tanulmányozására. A viszonylag kis számú egyén miatt, az emelkedett fibrinogén szintű csoportokban kapott eredményeket meg kell erősíteni egy nagyobb létszámú kohorszban. Egy nagyobb létszámú tanulmány lehetővé tenné a gén-dózis hatás vizsgálatát is. A MI túlélő közül csak a koronária katéterezésre kiválasztottak kerültek bele a tanulmányba, amely egyben egy kiválasztási hiba is. A tanulmányba csak magyar betegek kerültek bele, kiterjesztése más nemzetiségű kohorszokra megerősíthetné a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus ritka alléljának védő hatását.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A dolgozat két összefüggő téma vizsgálatát írja le: 1/A véralvadás XIII-as faktor (FXIII) B alegységének (FXIII-B) polimorfizmusai és egyéb nem genetikus tényezők hatása a FXIII aktivitás és antigén szintjére egészséges egyéneknél, 2/A FXIII szintek és a FXIII polimorfizmusok, különösen a FXIII-B alegység polimorfizmusainak a hatása a szívkoszorúér-betegség kockázatára.

Az eredmények azt mutatják, hogy egészséges egyéneknél a FXIII plazma szintje multifaktoriális szabályzás alatt áll, melyek közül a kor, a fibrinogén koncentráció és a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus a legfontosabb. A nemnek nem volt hatása a FXIII aktivitás, illetve a komplex plazma FXIII (FXIII-A₂B₂) antigén szintekre. Meglepő módon a totál FXIII-B (tFXIII-B) antigén szint férfiakban szignifikánsan magasabb volt mint nőkben. A FXIII-B intron K G allél hordozókban a FXIII aktivitás, FXIII-A₂B₂ és tFXIII-B antigén szintek szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a vad típusú egyének esetében. Habár a FXIII-B intron K c.1952+144 C>G polimorfizmus hatása a FXIII szintekre független a FXIII A alegység (FXIII-A) p.Val34Leu polimorfizmus jelenlététől, a két minor allél együttes jelenléte volt a legnagyobb hatással a FXIII aktivitásra és FXIII-A₂B₂ antigén szintre. A FXIII szintek csökkenése a Leu34-intron K G allél hordozók esetében volt a legnagyobb. A

FXIII szintjét befolyásoló faktorok ismerete elősegítheti a FXIII trombotikus betegségekben betöltött szerepének a megértését és további kutatások kiindulópontja lehet.

A FXIII-B p.His95Arg polimorfizmus nem befolyásolta a koronária ateroszklerózis (CAS) illetve a miokardiális infarktus (MI) rizikóját, ezzel szemben a FXIII-B intron K G allél csökkentette a CAS és MI rizikóját azon egyéneknél, akiknél a fibrinogén szint a felső harmadban volt. Érdekes módon a FXIII-B intron K G allél védő hatása csak a FXIII-A Leu34 allél jelenlétében jelentkezett; a két polimorfizmus hatása közt egy szinergizmus volt kimutatható. Az intron K G allél hordozók szignifikánsan alacsonyabb FXIII aktivitással és FXIII-A₂B₂ antigén szinttel rendelkeztek, hasonlóan az egészséges populáción kapott eredményeinkhez. Ugyanúgy, mint az egészséges populáció esetén, a legalacsonyabb FXIII aktivitást és FXIII-A₂B₂ antigén szintet a Leu34 és az intron K G allélek együttes jelenléte esetén mértünk, míg a Val34 és az intron K C allélre egyaránt homozigóták rendelkeztek a legmagasabb FXIII aktivitással és FXIII-A₂B₂ antigén szinttel. Mivel az alsó harmadban levő FXIII szintek szignifikánsan csökkentették a MI rizikóját, kijelenthető, hogy a FXIII-B intron K G és a FXIII-A Leu34 allélok közös védő hatása összefügg az alacsony FXIII szintekkel.

7. TÁMOGATÁS

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00050 projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió és az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg. Kiegészítő támogatás érkezett a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alaptól, Magyarország (K 113097) és a Magyar Tudományos Akadémiától (MTA TKI417 11003).

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Regionális
Fejlesztési Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE

A KIADVÁNYOK LISTÁJA



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/311/2016.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

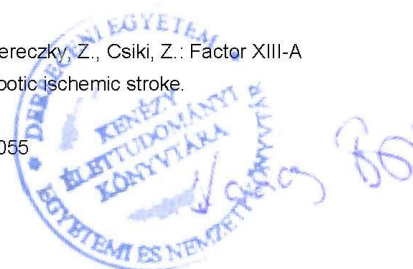
Jelölt: Mezei Zoltán András
Neptun kód: FZJBEJ
Doktori Iskola: Laki Kálmán Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10037483

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Mezei, Z. A.**, Katona, É., Kállai, J., Bereczky, Z., Molnár, É., Kovács, B., Ajzner, É., Bagoly, Z., Miklós, T., Muszbek, L.: Regulation of plasma factor XIII levels in healthy individuals; a major impact by subunit B intron K c.1952+144 C>G polymorphism. *Thromb. Res.* 148, 101-106, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2016.10.025>
IF: 2.320 (2015)
2. **Mezei, Z. A.**, Bereczky, Z., Katona, É., Gindele, R., Balogh, E., Fialat, S., Balogh, L., Czuriga, I., Ádány, R., Édes, I., Muszbek, L.: Factor XIII B Subunit Polymorphisms and the Risk of Coronary Artery Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 16 (1), 1143-1159, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms16011143>
IF: 3.257

További közlemények

3. Shemirani, A. H., Antalfi, B., Pongrácz, E., **Mezei, Z. A.**, Bereczky, Z., Csiki, Z.: Factor XIII-A subunit Val34Leu polymorphism in fatal atherothrombotic ischemic stroke. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 25 (4), 364-368, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/MBC.000000000000055>
IF: 1.403



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. ☐ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. ☐ Tel.: (52) 410-443
E-mail: publikaciok@lib.unideb.hu ☐ Honlap: www.lib.unideb.hu



4. Antalfi, B., Pongrácz, E., Csiki, Z., **Mezei, Z. A.**, Shemirani, A. H.: Factor XIII-A subunit Val34Leu polymorphism in fatal hemorrhagic stroke.
Int. J. Lab. Hematol. 35 (1), 88-91, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-553X.2012.01465.x>
IF: 2.114
5. Koncz, Z., Bagoly, Z., Haramura, G., **Mezei, Z. A.**, Muszbek, L.: Thrombomodulin-dependent effect of factor V Leiden mutation on the cross-linking of alfa2-plasmin inhibitor to fibrin and its consequences on fibrinolysis.
Thromb. Res. 130 (3), 528-534, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2012.05.019>
IF: 3.133
6. Koncz, Z., Bagoly, Z., Haramura, G., **Mezei, Z. A.**, Muszbek, L.: Thrombomodulin-dependent effect of factor V Leiden mutation on factor XIII activation.
Thromb. Res. 129 (4), 508-513, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2011.06.030>
IF: 3.133

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 15,36

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 5,557

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

Debrecen, 2016.11.24.

