

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

ANGIOLÓGIAI ELTÉRÉSEK ÉS IMMUNO-
INFLAMMATORIKUS MECHANIZMUSOK PRIMER
ANTIFOSZFOLIPID SZINDRÓMÁBAN

Dr. Dér Henrietta

Témavezető: Dr. Soltész Pál



Laki Kálmán Doktori Iskola

2010

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	1. oldal
Bevezetés	2. oldal
Irodalmi áttekintés	3-6. oldal
Célkitűzések	7-8. oldal
Betegek, módszerek	9-18. oldal
Eredmények	19-37. oldal
Új eredmények	38-39. oldal
Megbeszélés	40-48. oldal
Összefoglalás	49. oldal
Summary	50. oldal
Irodalomjegyzék	51-57. oldal
Függelék	58-60. oldal
Tárgyszavak	61. oldal
Köszönetnyilvánítás	62-63. oldal

Rövidítések jegyzéke:

ACE	angiotenzin konvertáló enzim
aCL/ anti CL	antikardiolipin
AIx	augmentációs index
Anti-Xa	X-es alvadási faktor ellenes antitest
aPL	antifoszfolipid antitestek
APS	antifoszfolipid szindróma
β2GPI/ B2GPI	β2-glycoprotein I
CD	cluster of differentiation - differenciálódási antigének
EKG	elektrokardiogram
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FACS	fluorescence-activated cell sorting
FITC	fluoreszcein izotiocianát
FMD	flow-mediált vasodilatáció
HP	Hewlett Packard
HSP	hősokk protein
ICAM	intercellularis adhéziós molekula
IgG, A, M	immunglobulin G, A, M
IL	interleukin
IFN-γ	interferon gamma
IMT	intima-média falvastagság
LA	lupus antikoaguláns
LDL	alacsony sűrűségű lipoprotein
LMWH	low molecular weight heparin - alacsony mólsúlyú heparin
MCP-1	monocyta kemoattraktáns protein 1
NFκB	nukleáris faktor kappa-B
ng	nanogramm
NMD	nitrát-mediált vasodilatáció
NO	nitrogén-monoxid
NS	nem szignifikáns
oxLDL	oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein
p	p érték - szignifikancia szintje
pg	pikogramm
PWV	pulse wave velocity - pulzushullám terjedési sebesség
R	regressziós koeficiens
SD	standard deviáció
SLE	szisztémás lupus erythematosus
Tc	cytotoxikus T-sejt
TF	tissue factor - szöveti faktor
Th	T helper sejt
TLR	toll-like receptor
TNF	tumor nekrozis faktor
tPA	szöveti plazminogén aktivátor
UH	ultrahang
VCAM	vascularis sejt adhéziós molekula
vs.	versus
vWF	von Willebrand faktor
vWFAg	von Willebrand faktor antigén

Bevezetés

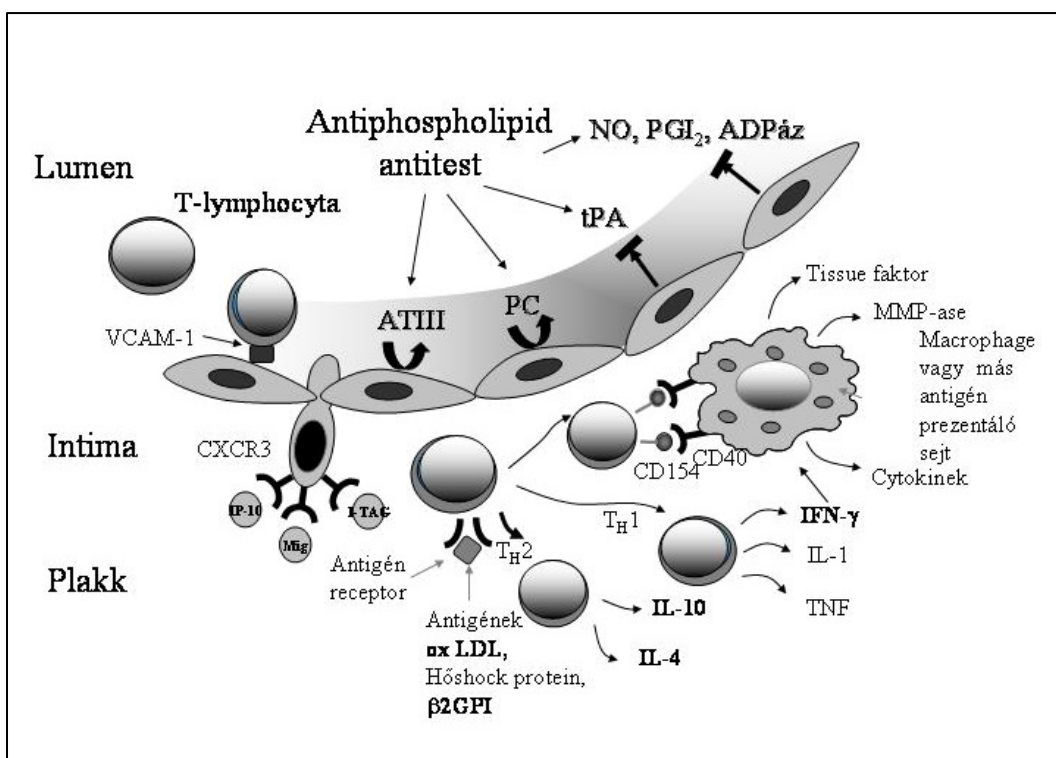
Az antifoszfolid szindróma patológiai antitestek szerepével összefüggésbe hozható autoimmun-mediált thrombotikus tünetegyüttes. Az antifoszfolid szindróma diagnózisa akkor állítható fel, ha egy bizonyított thrombotikus folyamat mellett konzekvensen kimutatható autoantitest van jelen az alábbiak közül: lupus antikoaguláns, IgG és/vagy IgM típusú antikardiolipin antitest közepes, vagy magas titerben, illetve β 2-glycoprotein I ellenes antitest (1, 2). A thrombotikus folyamat bármely szerv artériáit, vagy vénáit érintheti, illetve egy speciális formája, az antifoszfolid antitestek által előidézett vetélés. Tekintettel arra, hogy egy potenciálisan patogén autoantitestről van szó, elkülönítünk egy klinikai tünetek nélküli antifoszfolid antitest pozitív csoportot is (3). A thrombophil állapotban észlelhető korai atherosclerosis, illetve annak akcelerációja mindenképpen felveti az atherosclerosis patogenezisében a klasszikus rizikófaktorokon túl egyéb APS specifikus tényezők jelenlétét, ezzel aktualitást biztosítva napjainkban olyan non-invazív vizsgálómódszereknek, melyekkel a korai atherosclerosis jellemző funkcionális, valamint legkorábbi morfológiai eltérések detektálhatók. A betegségben igazolt korai atherosclerosis időben megkezdett terápiája elengedhetetlen része az APS komplex adekvát kezelésének.

Irodalmi áttekintés

Az antifoszfolipid szindróma kutatásának középpontjába az utóbbi években az antifoszfolipid antitestek, valamint az anti B2GPI atherosclerosisban betöltött patológiai szerepe került. Nyilvánvalóvá vált, hogy az atheromatous plakk autoantigénjei közül, a hőszokk protein és az oxidált LDL mellett a B2GPI is egy olyan antigén, mely részt vesz a plakk immunológiai folyamataiban, antigén dependens T-sejt proliferációt indukál, valamint az ellene beinduló autoantitestes mechanizmus további thrombophil tényezőként jelenik meg az atherothrombosis folyamatában (4, 5, 6, 7).

Az antitestek thrombotikus hatásmechanizmusai többrétűek. Hatásukra változik a szöveti faktor expresszió, képesek inaktiválni annak gátló proteinjét is. Befolyásolják az eikozanoid metabolizmust, az annexin V kötődést, a pre-pro-endothelin 1 szintézist, valamint az apoptózist. Kutatások azt igazolták hogy, ezen hatások B2GPI aktivitáshoz kötöttek, és a transzkripciós faktor NF κ B kulcsszerepet tölt be ezen folyamatokban. Az antithrombin III, protein S és protein C gátlás, a thromboxan/prosztaciklin balance thrombotikus irányba történő eltolása révén komplex módon képesek gátolni az endothel antithrombotikus funkcióit. Fokozzák a thrombocytá aggregációt és aktivációt is. Terhességben kialakuló placentaris elégtelenség hátterében is állhatnak, a placentaris erek vasoconstrictioját, thrombosisát okozva, valamint gátolják a throphoblast inváziót és az implantációt (8, 9, 10). Pathogén hatásuk révén a placentában megnövekszik a tromboxán, a prosztaciklin szint, ennek a következménye a thrombocytá aktiváció és a vasoconstrictio. A későbbiekben ettől eltérően az endothel antithrombotikus funkciójának blokkolásával előidézett thrombogén hatásúkkal magyarázták, a létrejött vasoconstrictiot és a thrombocytá aktivációt – azaz a balance eltolódást (11). Az antifoszfolipid antitestek hatására az endothel sejtek prokoaguláns és proinflammatorikus fenotípusúvá válnak, felületükön adhézios molekulákat expresszálnak

(intercellularis adhéziós molekula – ICAM, vascularis sejt adhéziós molekula – VCAM, E-szelektin), változik a prosztaglandin metabolizmus, proinflammatorikus citokineket és kemokineket termelnek (IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1). Ezen folyamatok összessége egy hiperkoagulációs és proinflammatorikus állapot létrejöttéhez vezet, valamint az atherosclerotikus plakkban kimutatható B2GPI, mint autoantigén részt vesz a plakkban lejátszódó immuno-inflammatorikus folyamatokban, melyeken keresztül patológiai szerepe van az atherosclerosis kialakulásában (1. ábra) (12, 13).



1. ábra: Az atheromatosus plakk gyulladásos folyamatai (Libby általunk módosított ábrája, eredeti ábra: Nature 2002. 420: 868-874.)

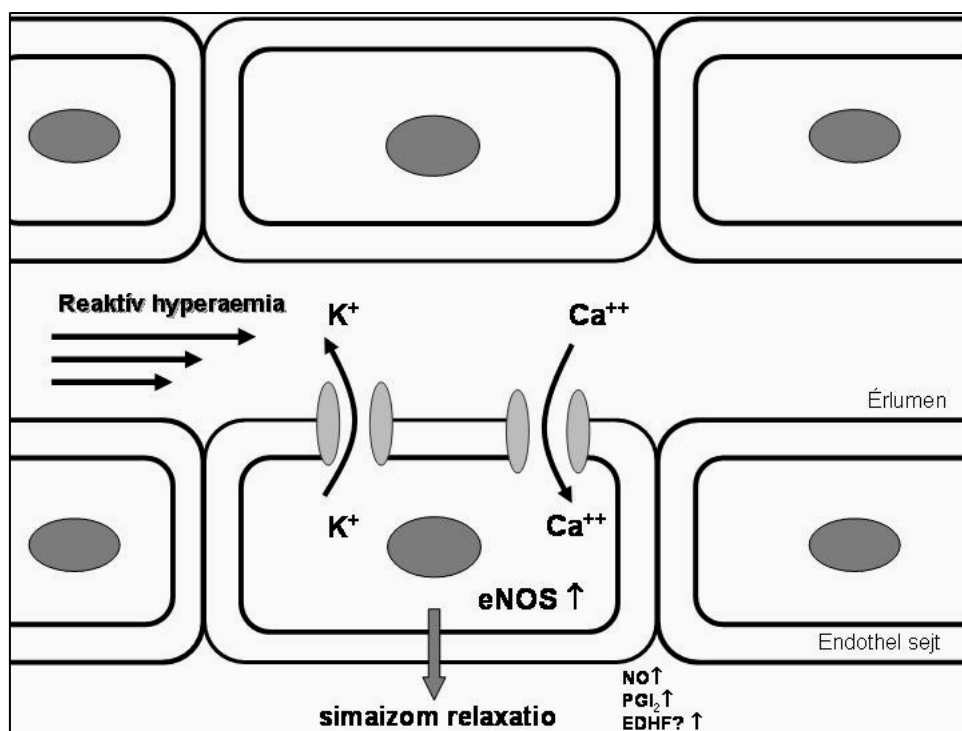
Egyre több bizonyíték áll rendelkezésre az antifoszfolipid antitestek atherosclerosis folyamatában betöltött kóros szerepére is. Az antitestek szerepet játszanak az atherosclerosis felgyorsításában, akcelerációjában, melynek lehetséges mechanizmusa a B2GPI

keresztreakciója az oxidált LDL ellenanyagokkal. A mechanizmus a makrofágok IL-1 szekrécióján keresztül simaizom proliferációhoz vezet. További negatív hatás, hogy igazolódott, a B2GPI gyorsítja a makrofágok oxLDL felvételét. Az oxLDL és a B2GPI komplexet alkotva helyezkednek el az atheroscleroticus plakkban, az immunoreaktív limfociták közelében. Az oxLDL/B2GPI autoantigén komplex ellen irányuló IgG típusú autoantitestes mechanizmus erős összefüggést mutat az artériás thrombotikus folyamatok létrejöttével. Az anti-B2GPI kötődése, B2GPI keresztreakciója az oxidált LDL ellenanyagokkal kóros endothel aktivációt okozva egy prokoaguláns állapot létrejöttéhez vezet (14, 15, 16), valamint a B2GPI aktivitáshoz kötött folyamatok eredménye az endothel diszfunkció.

Az érlemezésedés évekig lappangó, krónikus gyulladási folyamat, melyre gyakran már csak a manifeszt célszervkárosodás létrejöttékor figyelünk fel. Az alattomosan előrehaladó folyamat korai szakaszában elsőként egy funkcionális károsodás megléte jellemző, mely az endothel sejtek csökkent nitrogén-monoxid elválasztása, azaz az endothel diszfunkció. A funkcionális eltérést követő korai morfológiai elváltozás az artéria carotis intima-média falvastagságának növekedése. Fontos, hogy az atheroscleroticus plakk megjelenését megelőző szubklinikus atheroscleroticus folyamatot időben felismerjük, és azt lehetőség szerint kezeljük. A belgyógyászati angiológia elmúlt évtizedében igen intenzív kutatás folyt az endothel diszfunkció és a korai atherosclerosis irányában. Több non-invaszív, újonnan bevezetett és értékes vizsgálómódszer is létezik, melyekkel a korai elváltozások detektálhatók.

Az egyik ilyen mérési módszer melyet Celermayer és munkatársai 1992-ben közöltek, az artéria brachialis áramlás-, valamint a nitrát-mediált vasodilatációjának nagy felbontású ultrahang készülékkel történő detektálása (17). A módszer elve, hogy az artéria brachialisban kialakuló áramlásnövekedés folytán létrejövő nyíróerők következtében az endothelsejtekben aktiválódik a nitrogén-monoxid szintetáz, így NO szintetizálódik, mely elválasztásra kerülve

az endothelsejtekből, létrehozza a vasodilatációt (2. ábra). Az áramlásnövekedés (flow-mediált vasodilatáció) következtében kialakuló dilatáció egészséges populációban százalékosan kifejezve mintegy 8%, azonban ha a vasodilatáció mértéke 5 % alatti, endothel diszfunkcióról beszélünk, mely már a szubklinikus atherosclerosist jelzi. Az atherosclerosis korai szakaszában elsőként az endothelsejtek ezen, a nyíróerők hatására létrejövő, NO szintetizáló funkciója károsodik, így a vizsgálattal az artéria csökkent tágulékonyága mutatható ki (17, 18, 19).



2. ábra: A flow-mediált vasodilatáció modellje

Elérhető vizsgálati módszer, az artéria carotis intima-média falvastagságának detektálása, mely szintén nagy felbontású ultrahang segítségével végezhető és az atherosclerosis szempontjából már a korai morfológiai eltéréseket jelzi (20, 21).

Az utóbbi években került a belgyógyászati angiológiai kutatások frontvonalába az érfali merevség meghatározása, az artériás stiffness mérése, mely jellemzésére jelenleg a

legelterjedtebb funkcionális paraméterek az augmentációs index, és a pulzushullám terjedési sebesség (22). A témában megjelent számos összefoglaló tanulmányt áttekintve bizonyos, hogy az artériás stiffness fokozódása, azaz az augmentációs index emelkedése, valamint a pulzushullám terjedési sebesség növekedése megelőzi az érlemezés megjelenését. Ezen paraméterek az érlemezés okozta szív-, érrendszeri megbetegedések független előrejelzőinek tekinthetők (23, 24, 25, 26).

A flow-mediált vasodilatáció, nitrát-mediált vasodilatáció, augmentációs index, pulzushullám terjedési sebesség, artéria carotis communis intima-média vastagság, mint angiológiai paraméterek alkalmasak az endothel diszfunkció, valamint a korai atherosclerosis morfológiai és funkcionális detektálására, még a szubklinikus klinikai stádiumban.

Ezen angiológiai vizsgálómódszerek szerepe felértékelődött, mivel szélesebb körben történő alkalmazásukkal lehetőség nyílik a korai atherosclerosis detektálására, valamint az ilyen szempontból fokozottan érintett szisztémás autoimmun betegek, beleértve az antifoszfolipid szindrómások időben történő szűrésére, és lehetőség szerint még hatékonyabb kezelésére (27, 28, 29).

Célkitűzések

1. Munkánk során célul tűztük ki primer antifoszfolipid szindrómás betegek komplex angiológiai vizsgálatát, mely során 44 primer APS-es beteg esetén végeztük el az artéria brachialis flow-mediált és nitrát-mediált vasodilatációjának mérését, valamint meghatároztuk esetükben az artéria carotis communis intima-média vastagságát. Emellett megtörtént a stiffness paraméterek, úgy mint az augmentációs index és pulzushullám terjedési sebesség meghatározása is. Összefüggést kerestünk a stiffness-, valamint az endothel funkciós paraméterek, és az artéria carotis intima-média vastagság között.

2. Választ kerestünk arra, hogy a primer APS-es betegcsoportot megbontva vénás és artériás érintettségű csoportra, van-e különbség a két csoport között az angiológiai eltérések és a vonWillebrand faktor antigén szint vonatkozásában.

3. A primer APS-ben észlelhető kezdeti angiológiai státusz rögzítése után longitudinális vizsgálatot indítottunk, abból a célból, hogy tanulmányozzuk egyes gyógyszerek endothel funkcióra gyakorolt hatását. A gondozott primer APS-es betegeinket, a társuló egyéb cardiovascularis szövődményektől függően különböző terápiás csoportokba osztva havonta, illetve 3 havonta kontrolláltuk az angiológiai paramétereik változását követve. Két, primer APS-es terhes nő esetében lehetőségünk volt követni az endothel funkciós, valamint az érfali merevséget jelző angiológiai paraméterek változását terhességük alatt, valamint az antifoszfolipid antitest titer alakulását és esetleges összefüggését az előbbi paraméterekkel.

4. Az APS-es betegek angiológiai paramétereinek meghatározásával párhuzamosan immunológiai vizsgálatokat végeztünk abból a célból, hogy kapcsolatot keressünk az immunológiai-, valamint az angiológiai eltérések között. Arra kerestük a választ, hogy a perifériás vérben észlelhető egyes immuno-inflammatorikus eltérések összefüggést mutatnak-e az endothel diszfunkcióra utaló angiológiai eltérésekkel.

Betegek, módszerek

I. Angiológiai vizsgálatok primer antifosfolipid szindrómában

44 primer antifosfolipid szindrómás beteg (25 nő és 19 férfi) angiológiai vizsgálatát végeztük el. A betegek átlagéletkora: 52 ± 15 év (26-55) volt. 25 beteg esetében szerepelt vénás thromboembóliás esemény az anamnézisben, 19 beteg esetében artériás thrombotikus folyamat zajlott. A 25 primer APS-es nőbeteg nőgyógyászati anamnézisének tekintve, 10 esetben egészséges szüléssel végződő sikeres terhesség, 7 esetén vetélések és sikeres terhességek, 3 esetén csak vetélések szerepeltek az anamnézisben, míg 5 betegnek nem volt terhessége.

A primer antifosfolipid szindróma diagnózisának felállításakor a módosított Sapporo kritériumrendszerét, a thromboembóliás manifesztációk besorolásakor a Bick és Baker-féle beosztást vettük figyelembe. A vénás érintettségű APS-es betegek közül 4 részesült acenokuramol kezelésben, 12 szedett aspirint, 9 beteg pedig mindkettőt. Az artériás thrombotikus események: 3 akut coronaria szindróma, 5 stroke, 11 perifériás artériás obliteratív érbetegség. Azon betegek, akiknél artériás érintettség fordult elő, mindegyikük statin, ACE-gátló és aspirin kezelésben részesült, valamint közülük 3 beteg emellett acenokumarol, 2 pedig clopidogrel terápiában részesült. Vascularis eseményük az elmúlt 3 hónapban nem volt. A kontroll csoport 36 egészséges, korban és nemből illesztett egyén volt.

A 44 primer APS-es esetén meghatároztuk a flow-mediált és nitrát-mediált vasodilatációt és artéria carotis intima-média vastagságot, mely mérésekkel párhuzamosan von Willebrand faktor antigén szint meghatározás is történt. Az APS-ben észlelhető angiológiai eltéréseket 36 egészséges kontroll személyt tartalmazó csoport endothel funkciós paramétereivel vetettük össze. Az egészséges kontrollszemélyek korban, nemből és cardiovascularis rizikófaktorok tekintetében illesztve voltak a primer APS-esekhez. Az endothel funkciós paraméterek mellett, a stiffness paraméterek vizsgálatát is elvégeztük.

II. Longitudinális vizsgálatba bevont betegek

25 antifosfolipid szindrómás beteget (16 nő és 9 férfi) prospektív jellegű longitudinális vizsgálatba vontunk be. A betegek átlagéletkora 53 ± 10 év (28-50) volt. Ezen betegeknél követtük az endothel diszfunkció és a stiffness paraméterek terápiás befolyásolhatóságát. A társuló egyéb cardiovascularis szövődményeket figyelembe véve, a bevont betegeket különböző terápiás csoportokba osztottuk: statin (10 beteg), ACE-gátló (10 beteg), béta-blokkoló (2 beteg) és immunszuppresszív (3 beteg) kezelésben részesülők. Az első részletes angiológiai vizsgálatot követően megtörtént a terápiás besorolás, majd havonta, illetve 3 havonta kontrolláltuk az angiológiai paraméterek változását.

Két, primer antifosfolipid szindrómás terhes nő esetében lehetőségünk volt követni az endothel funkciós, valamint az érfali merevséget jelző angiológiai paraméterek változását a terhességük alatt, melyekkel párhuzamosan laborvizsgálat is történt, az antifosfolipid antitest titerben bekövetkező változások folyamatos követésére. A fiatal nőbetegek, a korábbi thrombotikus manifesztációktól függően thrombocyta aggregációt gátló aszpirint és/vagy acenokumarolt szedtek, azonban a terhesség tervbevitelét követően, alacsony mólsúlyú heparinra állítottuk át őket. Az LMWH dózisének beállítása az anti-Xa faktor szintjének mérésével történt. Az első beteg 24 éves volt, akinek anamnézisében mélyvénás trombózis és ezzel szövődött masszív pulmonalis embólia szerepelt. Jelen vizsgált terhessége az első volt. A második, 28 éves grávida anamnézisében mélyvénás trombózis nem szerepelt, azonban jelen sikeres terhességét kettő habituális vetélés előzött meg.

III. Immuno-inflammatorikus mechanizmusok és az angiológiai eltérések összehasonlító vizsgálatába bevont betegek

Az angiológiai vizsgálatok mellett, APS-es betegeink immunológiai státuszát is vizsgáltuk, mely során a következő paraméterek kerültek meghatározásra: T-helper

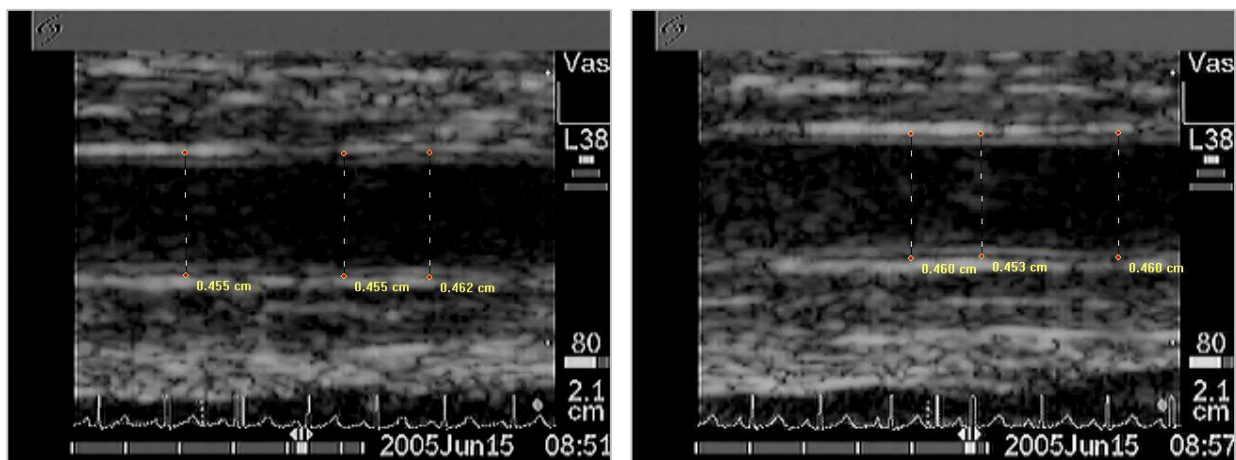
(Th1/Th2), cytotoxikus T- sejt, aktivált CD4+ és CD8+ sejtek aránya (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), IFN- γ , IL-4 és IL-10 exszpresszió mértéke (Sigma Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA), valamint szolubilis citokin (IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-6, IL-1 és IL-8) szint meghatározás is történt (BD Biosciences, San Jose, CA, USA). A méréseket Coulter EPICS XL áramlási citométerrel végeztük (Beckman Coulter Inc., Miami, FL, USA).

Az APS-ben észlelhető immuno-inflammatorikus eltérések elemzésékor azonban már egy másik kontrollcsoport, 36 stabil coronaria beteg laboreredményeit használtuk kontrollként, akiknél az antifoszfolipid irányú vizsgálat az antitestek jelenlétét kizárta. A primer APS-ben észlelhető immuno-inflammatorikus eltérések megjelenítéséhez választott másik, stabil anginás kontrollcsoportra vonatkozó döntésünk alapját az adta, hogy a betegségben észlelhető immunológiai eltéréseket és ezzel kapcsolatba hozható akcelerált atherosclerosis kapcsolatát mindenképp egy olyan betegpopuláció immunológiai paramétereivel kívántuk összevetni, akik esetén bizonyítottan jelen van atherosclerosis, azonban szervezetükben akut gyulladásos folyamat nem zajlik. Ilyen szempontokat figyelembe véve tűnt logikusnak egészséges kontroll személyek helyett - akiknél atherosclerosis nincs jelen - stabil coronaria betegek immunológiai paramétereinek összevetése a primer APS-es betegek immunológiai jellemzőivel. A vizsgálatok a III. sz Belgyógyászati Klinika Regionális Immunológiai Laboratóriumában történtek.

1. Az endothel funkció vizsgálata – flow-mediált (FMD) és nitrát-mediált vasodilatáció (NMD) meghatározása

Az FMD és az NMD mérése a nemzetközi ajánlásoknak, és a hazai konszenzusnak megfelelő metodikával történt. A méréseket a betegek jobb karján Hewlett-Packard Sonos 5500 nagyfelbontású duplex készülékkel, 5-10 MHz-es lineáris transzducerrel végeztük, EKG kapuzás mellett. Az artéria brachialisról, a lineáris transducer segítségével az egyéni anatómiai viszonyoknak megfelelően, a könyökhajlattól proximálisan 4-7 cm-re hosszmetzeti képet nyertünk, és így meghatározzuk annak nyugalmi átmérőjét. Ezt követően a vizsgálat kezdetén, az alkaron elhelyezett vérnyomásmérő mandzsetta 4, 5 perces felfújásával, a szisztolés vérnyomást 50 Hgmm-rel meghaladó szupraszisztolés érték fenntartásával, az artériában pangást hoztunk létre. A 4, 5 perces pangást követően a mandzsetta hirtelen felengedésével az artériában reaktív hyperaemiát váltottunk ki, mely az artériában így nyíróerők keletkezését indukálta. A keletkező nyíróerők következtében az endothelsejtek NO-t szintetizálnak, mely mint vasodilatator, artériás vasodilatációt vált ki. Az áramlásnövekedés következtében kialakult vasodilatációt, azaz az artéria átmérőjében bekövetkezett változást a mandzsetta felengedését követő 60. másodpercben digitálisan rögzítettük. A nyugalmi átmérő értékét elosztva a felengedést követő 60. másodpercben rögzített átmérővel, ezt százzal felszorozva megkapjuk a dilatáció mértékét százalékosan kifejezve. Megtartott endothel kapacitás esetén a dilatáció értéke 8 %, vagy azt meghaladó. Öt százalék alatti érték esetén beszélhetünk endothel diszfunkcióról. A nitrát-mediált vasodilatáció meghatározása során 15 perces pihenést követően ismét lemértük az artéria brachialis méretét, ezt tekintve kiindulási átmérőnek, majd 0,4 mg sublingualis nitroglicerin adására került sor, és 3 perces várakozást követően ismét detektáltuk az artéria méretét. A korábbiakhoz hasonlóan a nitrát adását követően detektált értéket elosztva a kiindulás értékkel és megszorozva százzal, megkaptuk az endothel-independens, azaz a nitrát mediált

vasodilatációt. A vizsgálati eredményeket digitálisan rögzítettük, azaz az artériáról minden esetben digitális, a számítógépes adatbázisban tárolt kép készült, és mindig utólag történt meg a nyugalmi, a deflációt követő 60. másodperces, a 15 perces pihenést követő ismételt nyugalmi, illetve a nitroglicerin adása utáni 3-4 perces átmérők meghatározása AVITA kiértékelő szoftverrel (3. ábra). Az átlagos átmérőt, 3 egymást követő szívciklus R szinkron mért eredményeinek átlagaként adtuk meg (17, 18, 19).



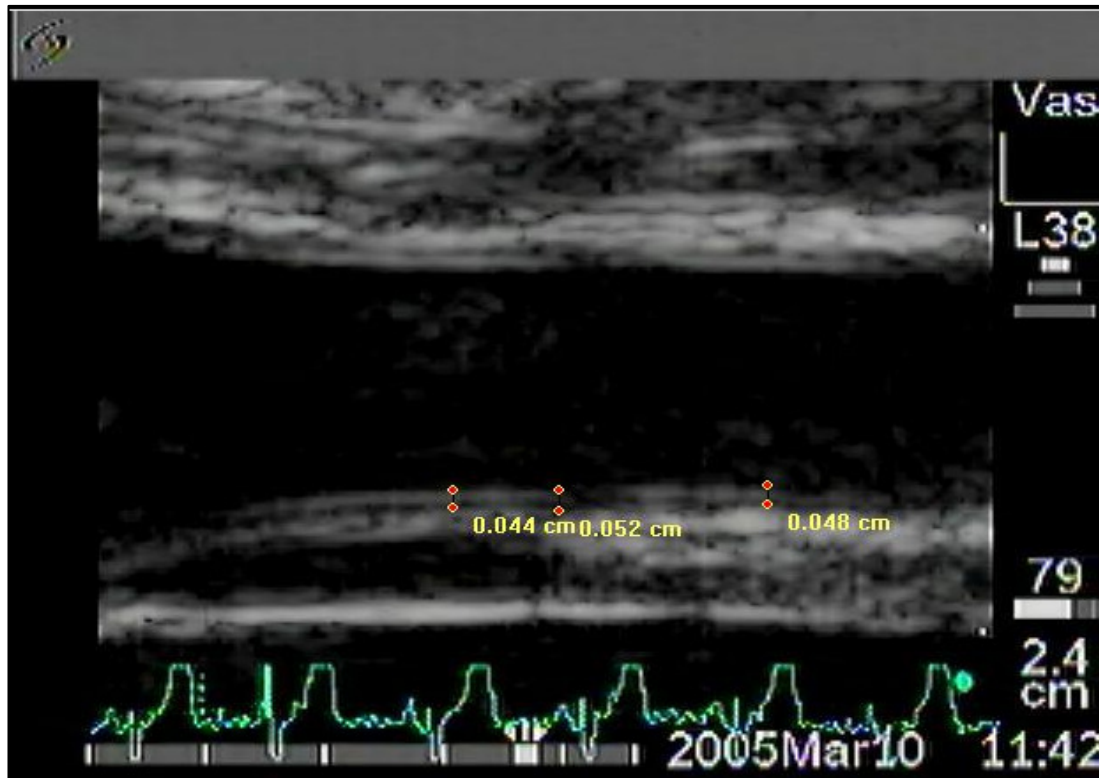
3. ábra: Az artéria brachialis nyugalmi-, és dilatált átmérő mérése digitalizált képanalízissel (AVITA kiértékelő szoftverrel – saját anyagunkból)

Az átmérőváltozások abszolút értéként (milliméter) és az alapátmérőhöz viszonyítva százalékos formában kerültek leírásra. Az artéria brachialison az endothel-dependens vasodilatációt reaktív hyperaemia kiváltásával, majd az endothel-independens értágulatot sublingualis nitroglicerin adagolásával értük el, a nemzetközi és hazai konszenzusnak megfelelően (19). Minden mérést ugyanazon személy végzett a délelőtti órákban, állandó hőmérsékletű, légkondicionált, 21°C-os helyiségben, a beteg egyéjszakás éhezését és 30 perces nyugodt fekvését követően. A vizsgálatban résztvevők a vizsgálat reggelén nem dohányoztak,

kávét, teát, valamint antioxidáns vitaminokat nem fogyasztottak, 24 órája vasoaktív készítményeket nem vettek be. Az endothel funkció ilyen módon történő detektálásának reprodukálhatósága igen jónak bizonyult. Az interobserver analízist elvégezve 20 betegnél a variációs koefficiens 8,95 % volt. Az intraobserver analízist 10 egészséges egyén esetén végeztük el. Három alkalommal ismételtük meg a vizsgálatot, melyek között 30 perc szünetet tartottunk. A variációs koefficiens ebben az esetben 4,6 % volt. Az artéria brachialis kiindulási átmérőjének meghatározása esetén is elvégeztük a variabilitás vizsgálatát 20 esetben, mely 0,86 % lett. Eredményeink a vizsgáló módszer reprodukálhatóságára vonatkozóan nem különböztek a nemzetközi ajánlástól (30).

2. Artéria carotis communis intima-média vastagság – carotis IMT vizsgálata

HP Sonos 5500 UH készülékkel duplex ultrahang vizsgálatot végeztünk, 5-10 MHz-es lineáris transzducerrel. Longitudinális és transzverzális metszeteket készítettünk a carotis rendszerről. Plakk hiányában medio-laterális szondaállással hosszmetseti képet nyertünk az artéria carotis communisokról, majd EKG-kapuzás mellett, végdiasztolében rögzített nagy nagyítású képen 10 mm-re proximalisan a carotis bulbustól online carotis IMT méréseket végeztünk. A carotis IMT-t a vizsgálófejjel szemben lévő falon megjelenő első (lumen-intima határ) és második (média-adventitia határ) echogen vonal távolságaként adtuk meg a leading edge módszert követve (4. ábra). Mindkét oldalon 10-10 mérést végeztünk, a mérési eredményeket átlagoltuk, az eredményeket milliméterben adtuk meg (31).



4. ábra: Az artéria carotis intima-média falvastagság (IMT) mérése digitalizált képanalízissel (AVITA kiértékelő softverrel – saját anyagunkból)

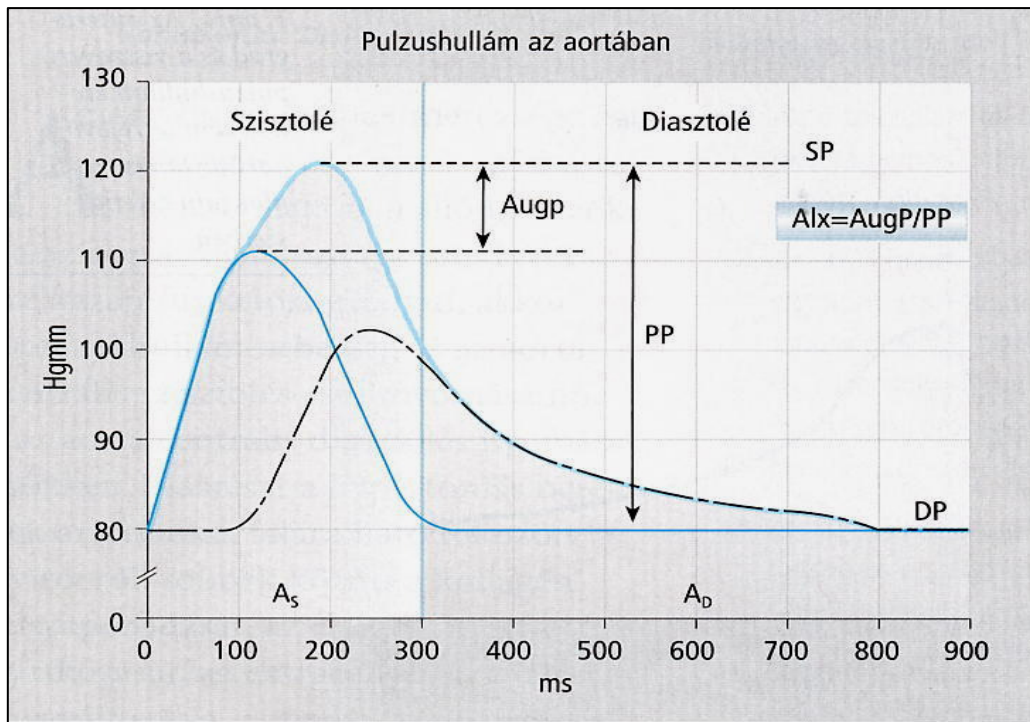
3. Stiffness paraméterek meghatározása – augmentációs index (AIx) és pulzushullám terjedési sebesség (PWV)

A stiffness paraméterek, mint az augmentációs index és pulzushullám terjedési sebesség meghatározása a TensioClinic arteriográf segítségével történt. A mérési módszer a perifériás pulzusnyomás görbe függvényanalízisen alapszik, mely az egész artériás rendszerre érvényes információ tartalmat, és az érlemezéssel kapcsolatos összefüggéseket hordoz. Az augmentációs index mérése azon a törvényszerűségeken alapszik, hogy a szív összehúzódásának hatására, a szisztolében keletkező első pulzushullám (P1) az aorta oszlásának magasságából visszaverődik (P2), az aorta rugalmasságától függő idő elteltével, valamint a perifériás erek tónusától függő amplitúdóval, és ráakadik az első, kezdeti

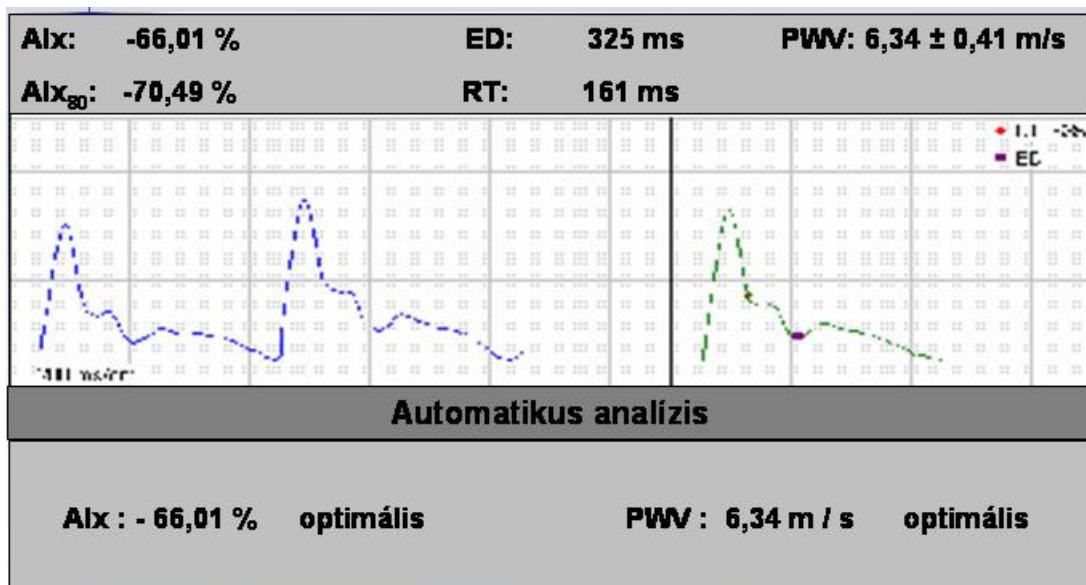
hullámra, így alakítva az eredő pulzushullám görbét (5. ábra). Morfológiáját tekintve, az eredő pulzushullám görbe, az érrendszer rugalmasságától függően eltérően alakul optimális augmentációs indexet (kevesebb, mint 0, akár negatív is lehet), valamint merev falú érrendszerben emelkedett (0%-30%), illetve kóros (30 % fölött) augmentációs indexet eredményezve attól függően, hogy a visszaverődő hullám milyen idő elteltével és mekkora amplitúdóval emeli meg, azaz augmentálja az első hullám amplitúdóját (6, 7, 8. ábra). A reflektált, azaz a késői szisztolés- (P2), és az első hullám (P1) amplitúdójának ismeretében kiszámítható az augmentációs index, mely az ejekció okozta korai szisztolés hullám és a késői, azaz a reflektált hullám amplitúdója közötti különbségnek és a pulzusnyomás hányadosának százalékban kifejezett értéke:

$$AIx (\%) = (P2 - P1)/PP \times 100$$

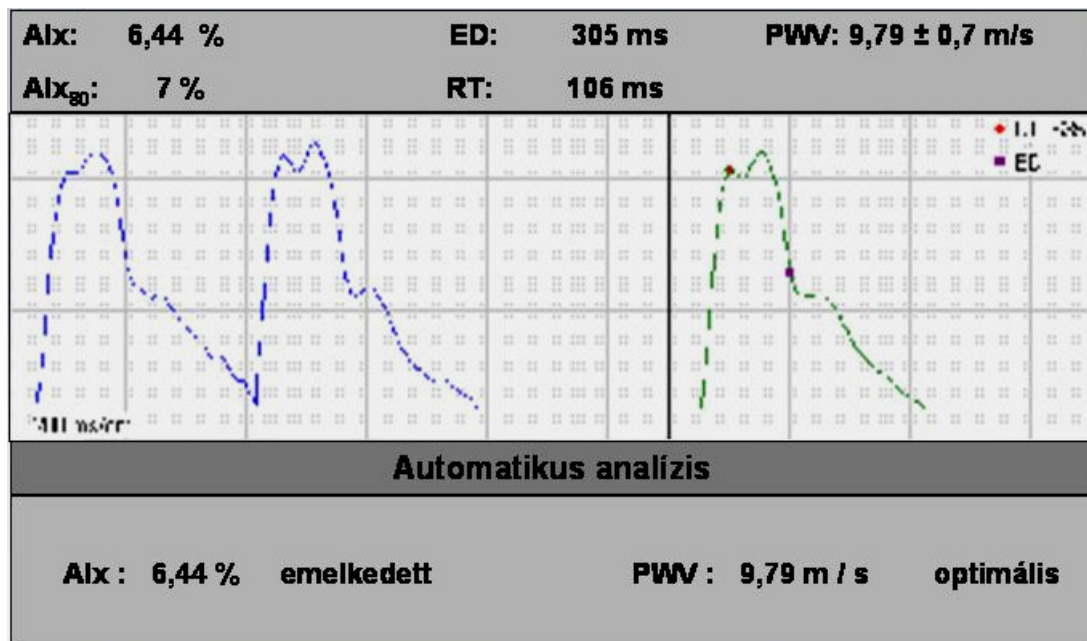
Egészséges esetben a visszavert hullám (P2) nagysága mindig kisebb, mint a kiindulási szisztolés hullám (P1), ezért $P2-P1/PP$ negatív értéket ad. Kóros esetben a reflexiós hullám megnövekszik, eléri, illetve meghaladja (augmentálja) az eredeti szisztolés hullámot, így a számított érték nullává, illetve pozitívvá válik.



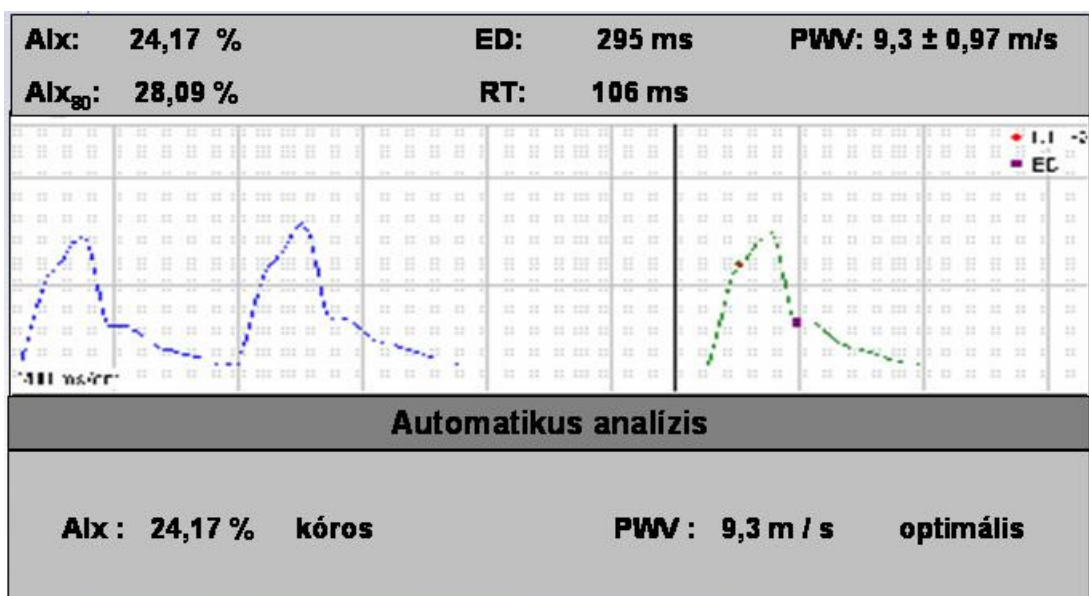
5. ábra: Az aorta pulzushulláma és elemzése során meghatározott paraméterek (eredeti ábra: Érfali merevség és hipertonia, Orvostovábbképző Szemle 2005, 12 (3): 76-83.)



6. ábra: Az eredő pulzushullám görbe **optimális** augmentációs index esetén (arteriográffal végzett mérési adat – saját anyagunkból)



7. ábra: Az eredő pulzushullám görbe **emelkedett** augmentációs index esetén (arteriográffal végzett mérési adat – saját anyagunkból)



8. ábra: Az eredő pulzushullám görbe **kóros** augmentációs index esetén (arteriográffal végzett mérési adat – saját anyagunkból)

A pulzushullám terjedési sebesség meghatározása azon fizikai törvényen alapszik, mely szerint a sebesség a megtett út, valamint a megtételéhez szükséges idő hányadosa. Ez alapján az aortában ejektált szisztolés volumen keltette első, és a visszaverődő második szisztolés görbe megjelenése között eltelt idő a reflexiós idő, mely az első és a reflektált hullám által megtett idő összege. A reflexiós idő fele így megegyezik azon idővel, mely ahhoz szükséges, hogy a pulzushullám az aortagyöktől az aortabifurcatiohoz jusson. Invazív vizsgálatok igazolták, hogy a non-invazív módon mérhető jugulum-symphysis távolság gyakorlatilag ezzel a távolsággal egyezik meg. Így a szegycsont és a szeméremcsont felső széle közötti távolságot elosztva a reflexiós idő felével, meghatározható a pulzushullám terjedési sebesség az aortában (22, 23, 24, 25). Baulmann és munkatársai összevetették az arteriográffal mért stiffness paramétereket egyéb mérési rendszerekkel, úgy mint a Sphygmocorral és a Complayerrel mért stiffness paraméterekkel. A három módszer közül az arteriográf reprodukálhatósága bizonyult a legjobbnak (22).

4. Von Willebrand faktor antigén (vWF_{Ag}) kvantitatív meghatározása immunturbidimetriás módszerrel

A vérminták a vizsgálatba bevont 44 primer APS-es és 36 egészséges kontroll személytől származtak. A 0,105 M nátrium-citráttal alvadásgátolt teljes vérből thrombocyta-szegény plazmát nyertek, a vér-citrát arány 9:1 volt. A von Willebrand faktor antigén szint kvantitatív meghatározás immunturbidimetriás módszerrel történt a Klinikai Biokémia és Molekuláris Patológiai Intézetben STA-Liatest vWF kittel (Diagnostica Stago, Asnieres, France) STA-Compact automatán. Az STA-Liatest vWF_{kit} (Diagnostica Stago, Asnieres, France), 3 különböző reagenst tartalmazott. Glicin puffert, humán vWF-ellenes antitestekkel fedett mikrolatex partikulákat és a reagens hígítására szolgáló glicin tartalmú puffert. A vWF-ellenes antitestekkel fedett mikrolatex partikulák a vWF, mint antigén jelenlétében

agglutinálódtak és az így kialakuló aggregátumok a nagyobb méretük miatt a mintára vetülő fény nagyobb hányadát nyelték el. A mérés 540 nm-en történt. A műszer a mért optikai denzitásokat a vWF_{Ag} szintjének függvényében ábrázolta, majd ez alapján határozta meg a 2x hígításban mért minták vWF_{Ag} szintjét. Az agglutináció és ez által a fényelnyelés mértéke a mintában jelenlévő vWF mennyiségével volt arányos. A von Willebrand faktor antigén szint kvantitatív meghatározása során a referencia tartomány 50-160 % volt.

5. Limfocita szubpopulációk és aktivált T-sejtek vizsgálata áramlási citométerrel

A limfocita szubpopulációk (T helper, citotoxikus T, natural killer T sejt) és az aktivált T-sejtek vizsgálata sejtfelszíni markereik ellen termelt monoklonális antitestek (CD3, CD4, CD8, CD19 és CD56) (BD Biosciences, San Diego, CA, USA és Immunotech, Marseille, Franciaország) felhasználásával, heparinnal alvadásgátolt vérmintából történt. Vizsgálták a T-limfocita aktivációs markerek, úgy mint HLA-DR és CD69 expressziójának mértékét is a CD3+ sejteken (BD Biosciences, San Diego, CA, USA). A mérések Coulter EPICS XL áramlási citométerrel történtek (Beckman Coulter Inc., Miami, FL, USA), Coulter Q-PREP protokoll és rendszer alapján. A limfociták, a monociták és a granulociták szeparálása méret és granuláltság alapján történt, minden mérés során ötezer limfocitát értékelve. A limfocita szubpopulációk aránya százalékban lett megadva.

6. Intracitoplazmatikus citokin meghatározás

CD4+ and CD8+ sejtek izolálása heparinnal alvadásgátolt teljes vérből történt, az intracitoplazmatikus citokin meghatározás során. A CD4 pozitív Th1, Th2 és Th0 sejtek jellegzetes citokin profiljuk alapján jellemezhetők és különíthetők el. A Th1 sejtek elsősorban IFN- γ -t, TNF- α -t, IL-2-t és IL-12-t termelnek, míg a Th2 sejtek dominálónan IL-4-t, IL-5-t, IL-6-t, IL-10-t és IL-13-t termelnek, a progenitor el nem kötelezett Th0 sejtek mind Th1, mind

Th2 citokinek termelésére képesek. Ma már - hasonlóan a T helper sejtekhez - egyre inkább elfogadott a CD8+ citotoxikus T sejtek differenciációja is a termelt citokinprofil alapján, de ezzel kapcsolatban kevés irodalmi adat áll még rendelkezésünkre. Mivel a nyugvó limfociták citokin tartalma igen nehezen detektálható, a meghatározás előtt a sejteket steril körülmények között, 25 ng/ml phorbol-myristát-acetát – PMA (Sigma Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA) és 1 ng/ml ionomycin (Sigma Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA) hozzáadásával stimulálják, mely során a mintát tartalmazó csövet 37°C-on, 5%-os CO₂ mellett 4 órán át inkubálják, óránként 1-2 alkalommal keverve. A Golgi apparátusból felszabaduló citokineknek, a sejtből történő kiürülésének gátlása céljából 10 µg/ml brefeldin-A-t (Sigma Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA) mérnek a rendszerhez. A festés során normál kísérleti körülmények között, a CD4 és CD8 sejtfelszíni antigének jelöléséhez kvantum-vörös konjugált specifikus monoklonális anti-CD4 és anti-CD8 antitesteket használnak (Sigma Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA). A rendszert 30 percig sötétben, szobahőmérsékleten inkubálják.

A vörös vértetek eliminálása FACS lizáló oldattal (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) történik majd a leukociták sejtmembránját permeabilizáló oldattal (BD Biosciences, San Diego, CA, USA) átjárhatóvá teszik. Mindkét folyamat során 10 percig szobahőmérsékleten, sötétben inkubálnak. Ezután következik mosás, és az intracitoplazmatikus citokinek jelölése specifikus monoklonális antitestekkel: FITC-jelölt anti-humán-IFN- γ , phycoerythrin-konjugált anti-humán-IL-4 (BD Biosciences, San Diego, CA, USA), PE-konjugált anti-humán-IL-10 (Caltag Laboratories, Burlingame, CA) 30 percen át sötétben, szobahőmérsékleten. A festési eljárás utolsó lépéseként a sejtek fixálását 500 ml 1 %-os paraformaldehiddel végzik. A minták kiértékelése azonnal megtörténik áramlási citométerrel. Az áramlási citométerrel történt mérések során, a CD4+/CD8+ limfocitákra kapuzva, ötezer sejt leszámolása történt meg. A limfociták, monociták és granulociták kapuzását, valamint szeparálását morfológiai jellegzetességeik alapján végzik.

7. A szérumból oldható citokinek detektálása

A szérumból IL-4, IL-10 és IFN- γ méréséhez BD OptEIA ELISA kitet (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) alkalmazták, a gyártó előírásait követve.

8. Statisztikai analízis

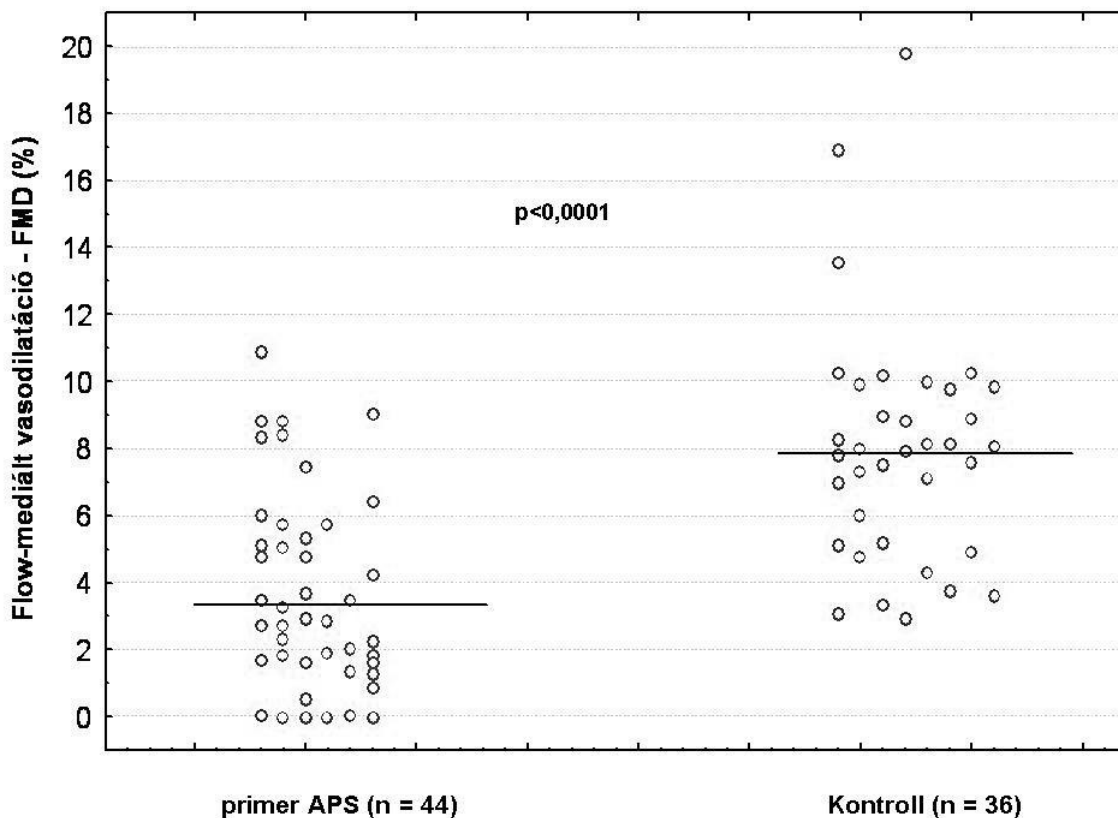
Statisztikai számításainkhoz a StatSoft Version 6. szoftvert alkalmaztuk. Kvantitatív adatainkat eloszlás szempontjából Kolmogorov-Smirnov, valamint Lilliefors teszttel elemeztük. Két mintasor összehasonlítása során, a szignifikancia szintjének számításakor, normál eloszlás esetén T-próbát, nem parametrikus eloszlású minta esetén Mann-Whitney tesztet alkalmaztunk. Különbséget $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak. Korreláció analízist parametrikus eloszlás esetén Pearson-teszttel, nem parametrikus eloszlás esetén, Spearman-teszttel végeztünk. Amennyiben számításaink során szignifikáns korrelációt találtunk, a két független változót koordináta rendszerben ábrázoltuk, jelölve a korreláció típusát, a szignifikancia szintjét, valamint a regressziós koefficiens (R) értékét.

Eredmények

I. Angiológiai vizsgálatok primer antifosfolipid szindrómában

Elvégezve a 44 primer APS-es beteg, és a korban, nemben, cardiovascularis rizikófaktorokat tekintve a betegcsoporthoz illesztett 36 egészséges kontroll személy esetén a flow-mediált és nitrát-mediált vasodilatáció, az artéria carotis intima-média falvastagság meghatározását, valamint az augmentációs index és pulzushullám terjedési sebesség mérését, eredményeink a következők lettek:

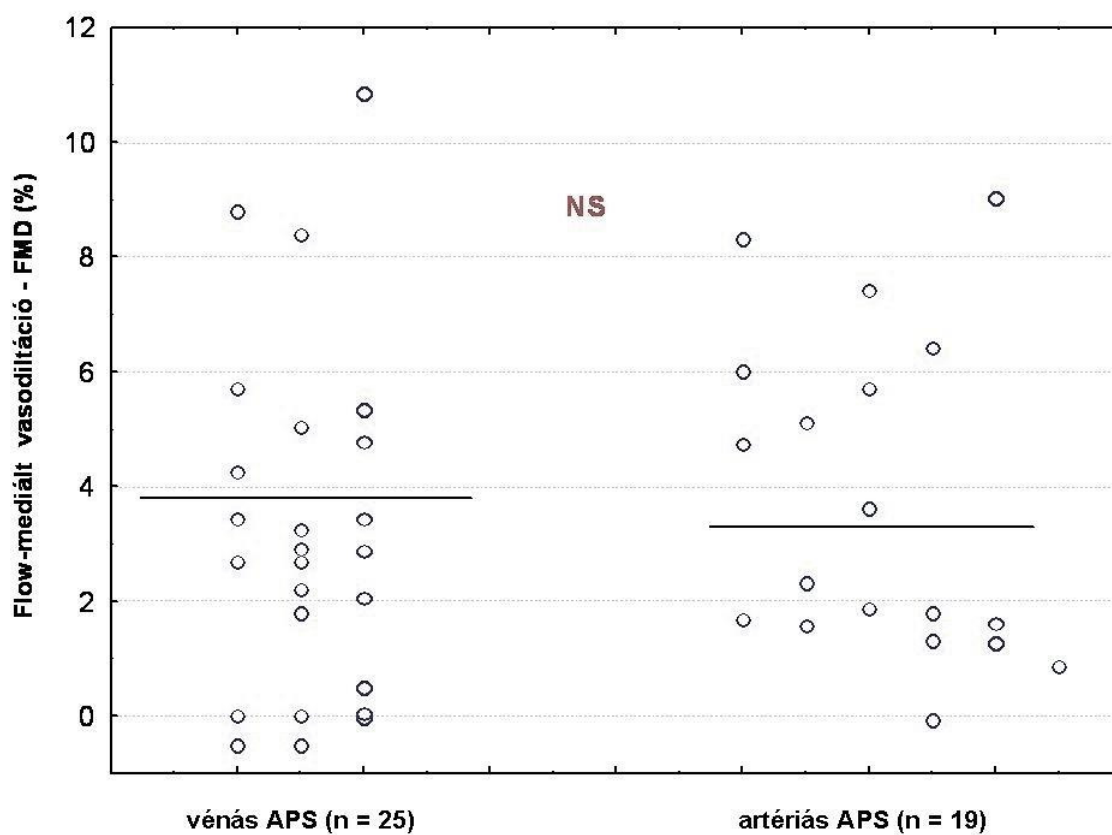
Az artéria brachialis flow-mediált vasodilatációjának kifejezett károsodását detektáltuk primer APS-ben, összevetve az egészséges kontrollcsoporttal ($3,43 \pm 2,86$ % vs. $7,96 \pm 3,57$ %; $p < 0,0001$) (9. ábra).



9. ábra: A flow-mediált vasodilatáció primer APS-ben az egészséges kontrollokhoz képest

A nitrát-mediált vasodilatáció tekintetében nem mutatkozott lényeges különbség a két csoport között ($13,71 \pm 6,98\%$ vs. $12,63 \pm 9,88\%$).

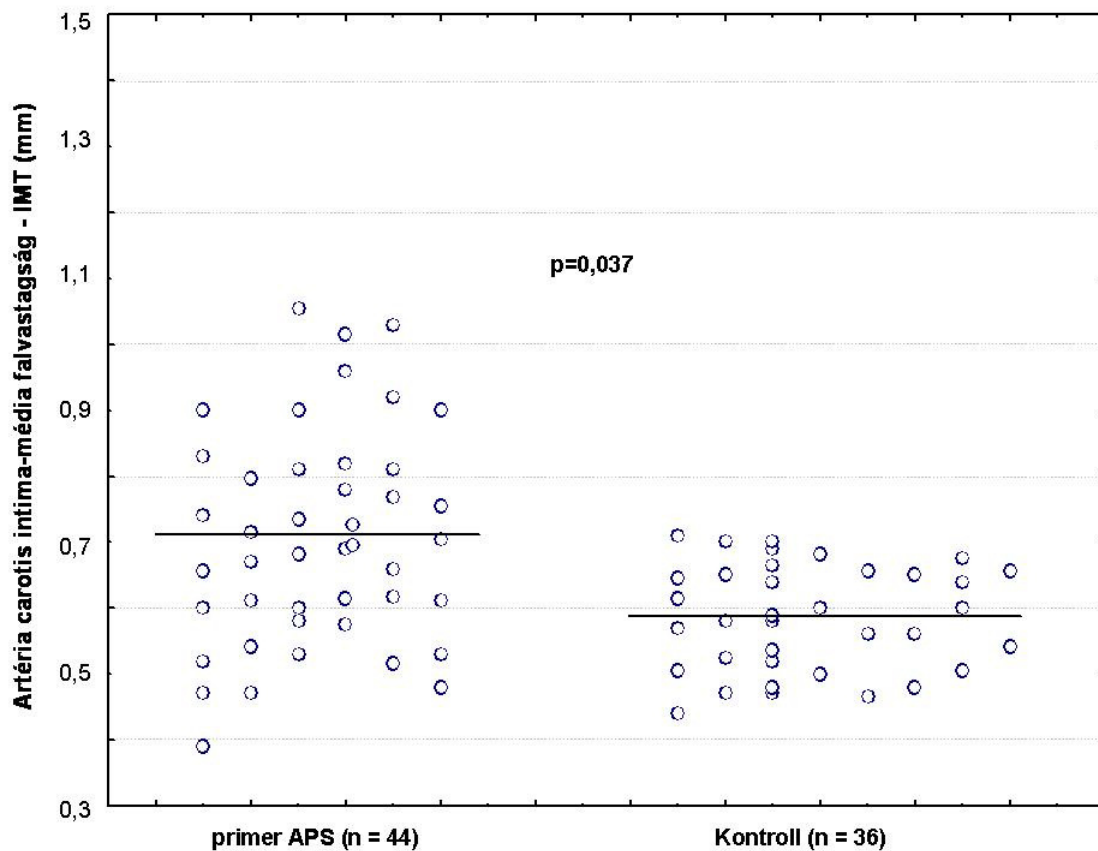
Vénás és artériás érintettség szempontjából megbontva az antifoszfolipid szindrómás betegeinket azt találtuk, hogy mindkét alcsoportban - artériás APS (19 beteg), és vénás APS (25 beteg) - szignifikánsan alacsonyabb az FMD, mint az egészséges kontroll csoportban (vénás APS: $3,71 \pm 2,77\%$ és artériás APS: $3,21 \pm 2,96\%$ vs. kontroll: $7,96 \pm 3,57\%$) (10. ábra). A két csoport FMD-je között azonban nem volt érdemi különbség.



10. ábra: A vénás és artériás érintettségű primer APS-es alcsoportok FMD-je

Az APS-ben a carotis IMT jelentős megvastagodását találtuk az egészséges kontroll csoporthoz képest. ($0,74 \pm 0,2$ mm vs. $0,58 \pm 0,085$ mm, $p=0,037$) (11. ábra). A kontroll csoport egyetlen tagja esetén sem detektáltunk plakkot az artéria carotis communison. Az

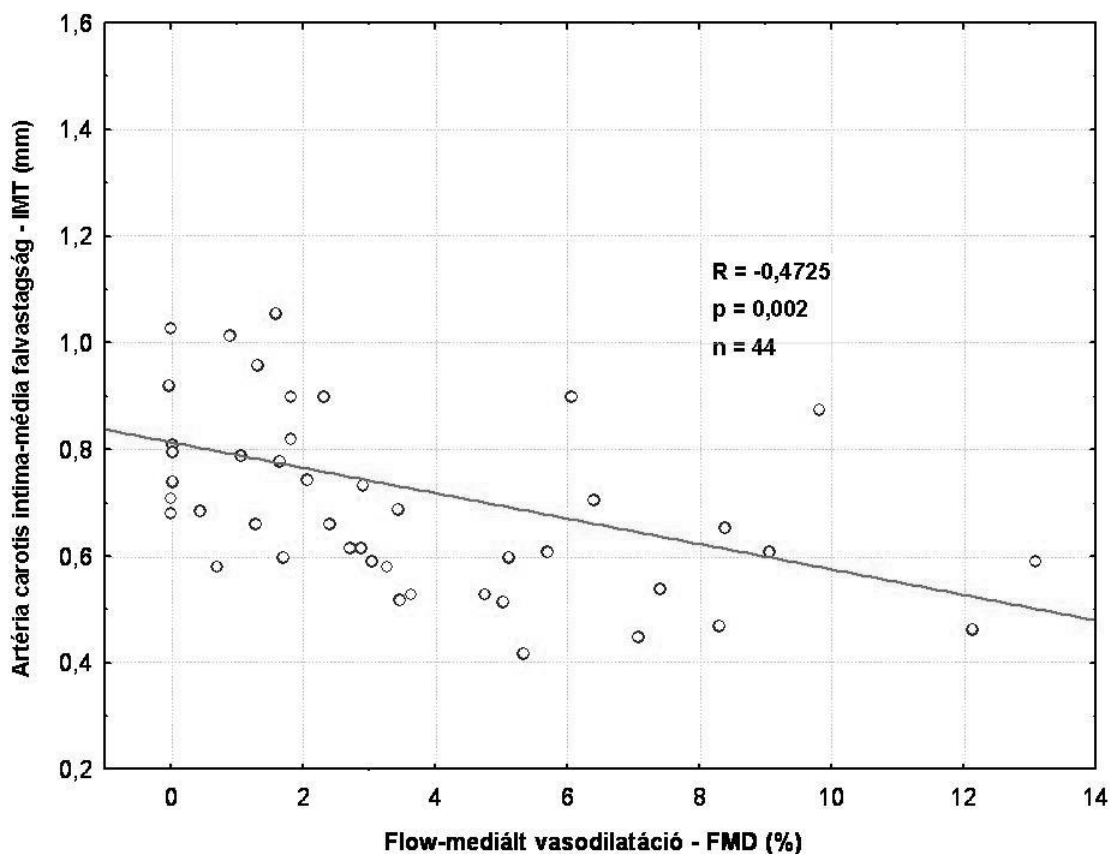
APS-ek közül 23 személy esetén találtunk carotis plakkot, azonban egy sem okozott szignifikáns stenosiszt.



11. ábra: Az artéria carotis intima-média falvastagság primer APS-ben az egészséges kontroll csoporthoz képest

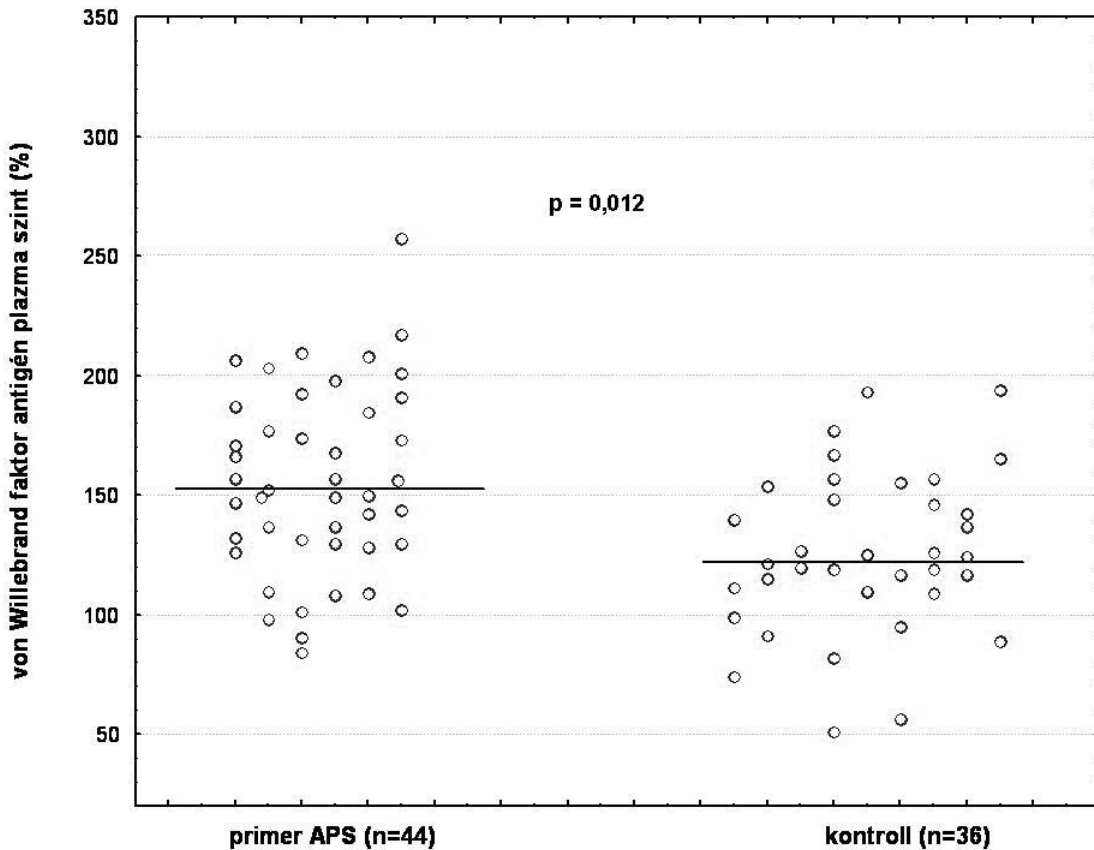
Analizálva az artériás és vénás alcsoportokat, az IMT mindkét betegcsoportban jelentősen meg volt vastagodva a kontroll csoporthoz viszonyítva (artériás APS: $0,7 \pm 0,22$ mm és vénás APS: $0,72 \pm 0,18$ mm vs. kontroll: $0,54 \pm 0,085$ mm, $p=0,044$ ill. $p=0,074$), azonban a két csoport IMT-je között lényegi különbség már nem volt.

A betegcsoportban az FMD és a carotis IMT között negatív, lineáris korreláció volt kimutatható ($R= -0,4725$, $p=0,002$) (12. ábra).



12. ábra: Az artéria carotis IMT összefüggése az endothel diszfunkció mértékével

Az angiológiai vizsgálatokkal párhuzamosan vonWillebrand faktor antigén plazma szint meghatározás is történt mindkét csoportban. A vWF antigén szintje szignifikánsan magasabb volt a primer APS-es betegek plazmájában az egészséges kontrollokhöz képest ($157,91 \pm 52,5\%$ vs. $125,87 \pm 32,8\%$; $p=0,012$) (13. ábra). További összefüggést keresve az endothel diszfunkció és egyes endothel aktivációs paraméterek között, emelkedett vWF antigén szintet találtunk azon primer APS-es betegek esetében, akiknél a vénás oldalon alakult ki trombózis, és ezen emelkedett szint korrelált az endothel diszfunkció mértékével ezen alcsoporton belül.



13. ábra: A primer APS-ben a vWF antigén plazmaszintje az egészséges kontrollokhoz képest

II. Longitudinális vizsgálatok primer antifoszfolipid szindrómában

Az egyes gyógyszerek endothel funkcióra gyakorolt hatását vizsgálva, 25 beteg esetén volt alkalmunk az endothel funkció és az artériás stiffness terápiás befolyásolhatóságát követni. A betegek anamnézisében szereplő thrombotikus manifesztációt, valamint a jellemző antitest pozitivitást táblázatban foglaltuk össze. A társuló cardiovascularis szövődményeket figyelembe véve, a bevont betegeket terápiás csoportokba osztottuk: statin, ACE-gátló, béta-blokkoló és immunszuppresszív kezelésben részesülők. Az első részletes angiológiai vizsgálatot követően terápiás besorolás, majd havonta, illetve 3 havonta kontroll vizsgálat

történt. A beválasztott betegek angiológiai paramétereinek (FMD, IMT, AIx, PWV) kiindulási értékei, szignifikánsan rosszabbak voltak az egészséges kontrollokhoz képest (1. táblázat).

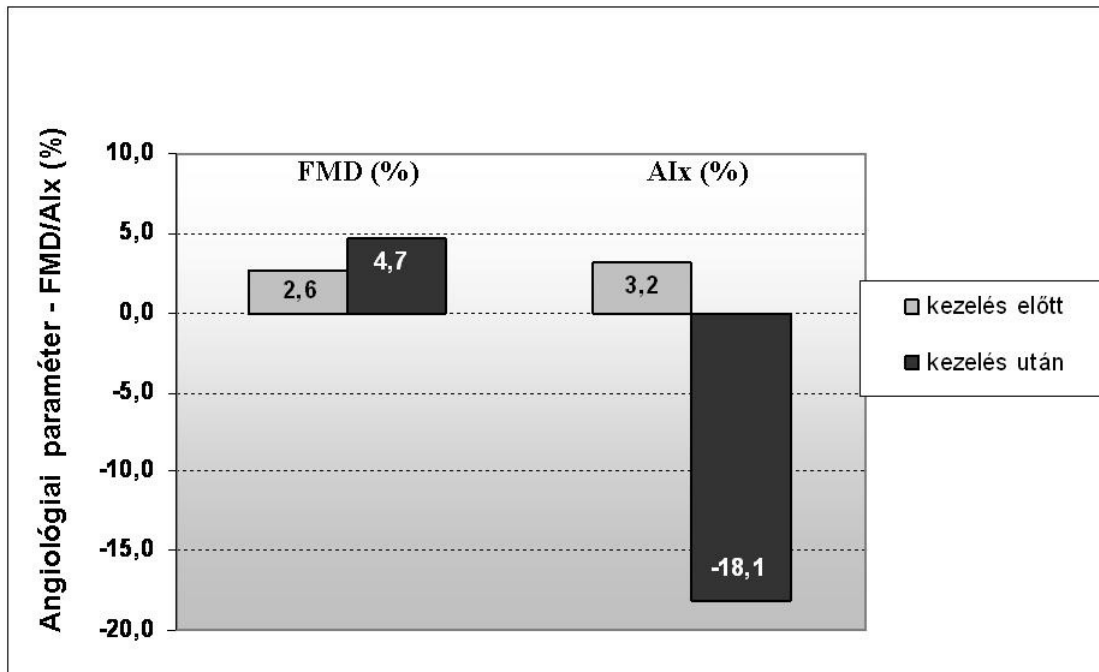
Thrombotikus manifesztáció	Betegek száma
MVT/PE	15
Acut coronaria szindróma	3
Perifériás artéria és cerebrovascularis	7
Antitest pozitívitas	Betegek száma
LA	4
CL	6
β2GPI	3
TÖBBES POZITÍVITÁS	12

1. táblázat: Longitudinális vizsgálatba bevont betegeink klinikai adatai.

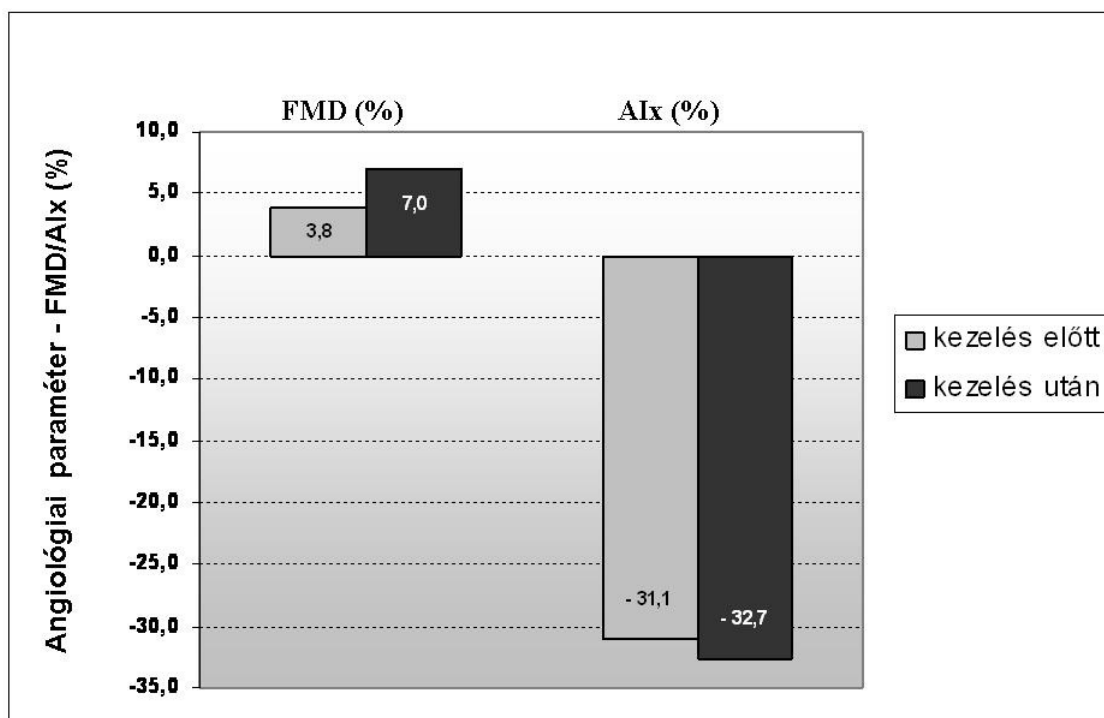
	Kontrollcsoport	Primer APS	Szignifikancia
Flow-mediált vasodilatáció (%)	8,38 ± 4,03	3,75 ± 2,88	p < 0,0001
Nitrát-mediált vasodilatáció (%)	17,49 ± 6,95	12,86 ± 5,29	p = 0,023
Carotis intima-média falvastagság (mm)	0,58 ± 0,085	0,658 ± 0,08	p = 0,0031
Augmentációs index (%)	-36,68 ± 20	0,45 ± 17,73	p < 0,001
Pulzushullám terjedési sebesség (m/s)	7,96 ± 1,53	9,2 ± 1,84	p = 0,036

2. táblázat: Követett betegeink kiindulási angiológiai paramétereit egészséges kontrollcsoport angiológiai paramétereivel összevetve

Azon terápiás alcsoportban, ahol ACE-gátló került bevezetésre, a kiindulási 2,6 %-os FMD 4,7%-ra, az AIx 3,2 %-ról -18,1 %-ra történő jelentős javulását tapasztaltuk (14. ábra), míg a statint szedők csoportjában az FMD 3,8 %-ról, 7 %-ra nőtt (15. ábra). Ebben az alcsoportban az AIx jelentős javulást nem mutatott, azonban kiindulási értéke eleve normál tartományban volt.



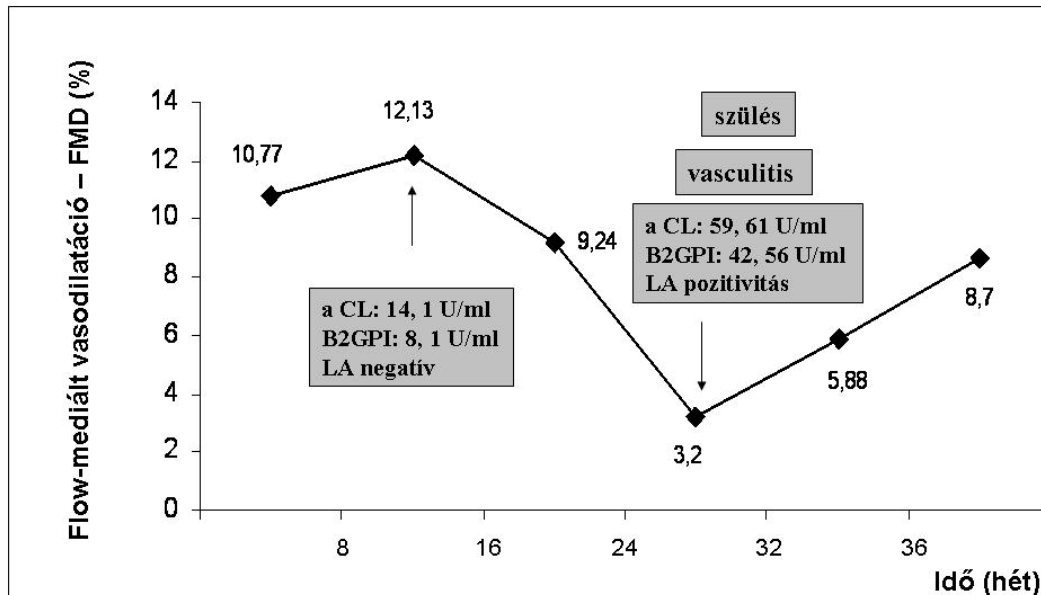
14. ábra: Az ACE-gátló terápia (3 hónapos kezelés) hatása az angiológiai paraméterekre



15. ábra: A statin terápia hatása (3 hónapos kezelés) a követett betegeink angiológiai paramétereire

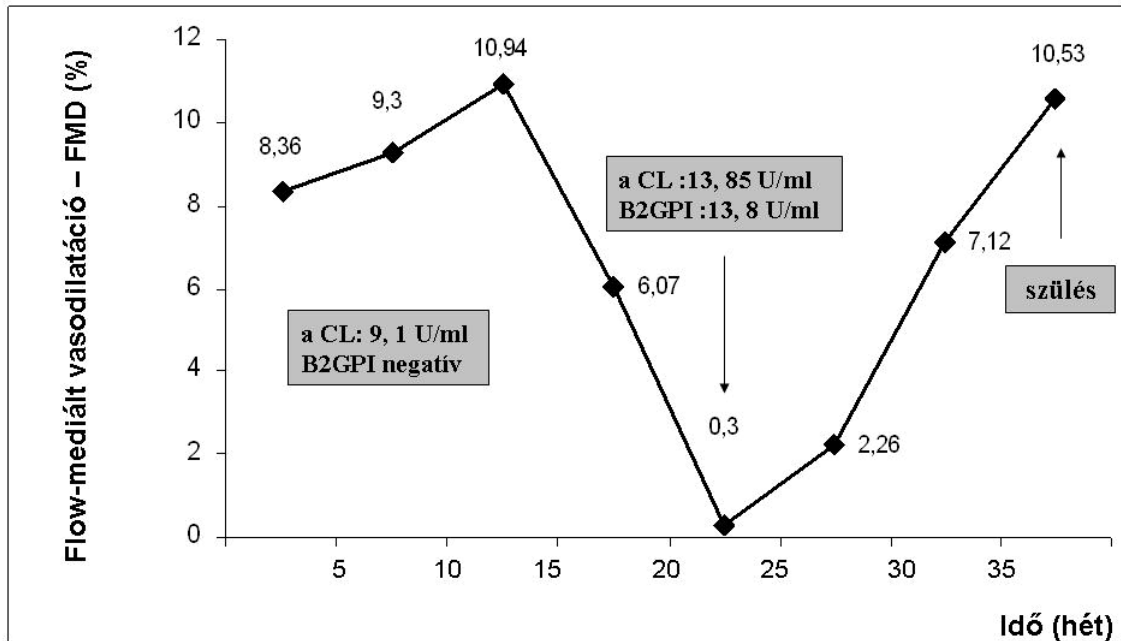
Kettő primer APS-es terhes nőt folyamatosan követtünk a terhességüket megelőzően, az alatt és a gyermekágyi szak első 6 hetében. Az egyik gravida 24 éves volt, akinek anamnézisében mélyvénás trombózissal szövődött tüdőembólia szerepelt, terhességét megelőzően aszpirint, valamint acenokumarolt szedett, azonban a terhesség tervbevitelét követően, LMWH-ra állítottuk át. A gyógyszer terápia hatékonyságát az anti-Xa faktor szintjének mérésével havonta kontrolláltuk. A terhessége alatt a CL és B2GPI pozitivitást mutatott (a CL: 14,1 U/ml; B2GPI: 8,1 U/ml), LA negativitás mellett. Az FMD értéke normál tartományban volt (9,24 % - 10,77%) azonban szülést megelőzően a meglévő antitestek títtere markánsan megemelkedett (a CL: 59,61 U/ml; B2GPI: 42,56 U/ml) és LA pozitívitás jelent meg, emellett vasculitise alakult ki. Ezzel párhuzamosan az FMD jelentős hanyatlását (3,2 %) detektáltuk. Terhessége 32 hetében preeclampsia tünetei jelentek meg, melyekre

tekintettel a graviditás terminálása mellett döntöttek. A gyermekágyi szakban nagy dózisú szteroidban részesült, mely hatására klinikai tünetei mérséklődtek, antitest titerei csökkenő tendenciát mutattak. A kóros FMD értéke is normalizálódott, 8,7 %-ra emelkedett heteken belül (16. ábra). Ezt követően a szteroidot, - dózist fokozatosan csökkentve - elhagytuk.



16. ábra: Antifoszfolipid szindrómás terhes követése

A második, 28 éves grávida anamnézisében többszörös vetélés szerepelt. A terhessége alatt konzekvensen anti CL pozitív (9,1 U/ml) volt. Az endothel funkciós paraméterei mindvégig normál tartományban voltak (8,36 % - 10,94 %). Az utolsó trimeszterben megjelenő B2GPI antitest pozitív mellett, a meglévő a CL titer emelkedést tapasztaltunk, mivel párhuzamosan egy jelentős FMD csökkenést is sikerült kimutatnunk. Tekintettel, hogy egyéb klinikai tünete nem volt, csak szorosabb követés mellett döntöttünk. A szülés a 39. héten történt komplikációmentesen (17. ábra).



17. ábra: A második gravida követése

III. Immunológiai paraméterek vizsgálata primer antifoszfolipid szindrómában

III/1. T-sejtes vizsgálatok primer APS-ben

A vizsgálat során 28 frissen diagnosztizált primer antifoszfolipid szindrómás beteg immunológiai paramétereit vetettük össze 36 stabil coronaria beteg immunológiai laborparamétereivel. A következő paraméterek kerültek meghatározásra: T-helper (Th1/Th2), cytotoxikus T- sejt, aktivált CD4+ és CD8+ sejtek aránya, IFN- γ , IL-4 és IL-10 expresszió mértéke, valamint szolubilis citokin szint: IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-6, IL-1 és IL-8. Az APS-es betegeket vascularis érintettség tekintetében vénás és artériás alcsoportra bontottuk. A betegeink immunológiai paramétereit összevetettük az esetükben észlelt angiológiai eltérésekkel.

Primer APS vs. stabil coronaria

A CD4+/ IL10+ (17,63 ± 12,97 % vs. 4,32 ± 5,83 %, p< 0,001) és a CD8+/ IL10+ (17,9 ± 10,76 % vs. 6,44 ± 17,24 %, p=0,011) sejtek aránya, szignifikánsan magasabbnak adódott a primer APS-es betegek esetén, a kontroll stabil anginás betegekhez képest (18. A ábra), azonban a CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ és CD 56+ sejtek arányát tekintve nem volt lényeges különbséget a két csoport között (3. táblázat)

	Primer APS	Stabil coronaria	Szignifikancia
CD3+ sejtarány (%)	70,3 ± 10,23	69,5 ± 10,69	p = 0,91
CD4+ sejtarány (%)	44,5 ± 6,16	44,27 ± 11,28	p = 0,95
CD8+ sejtarány (%)	23,2 ± 10,28	22,42 % ± 11,03	p = 0,84
CD19+ sejtarány (%)	10,5 ± 5,91	13,5 ± 14,79	p = 0,54
CD 56+ sejtarány (%)	19,55 ± 4,3	15,5 ± 7,49	p = 0,13
CD3+/HLADR+ sejtarány (%)	10,4 ± 7,73	12,23 ± 10,93	p = 0,63
CD3+/CD69+ sejtarány (%)	1,66 ± 1,61	1,16 ± 1,01	p = 0,27

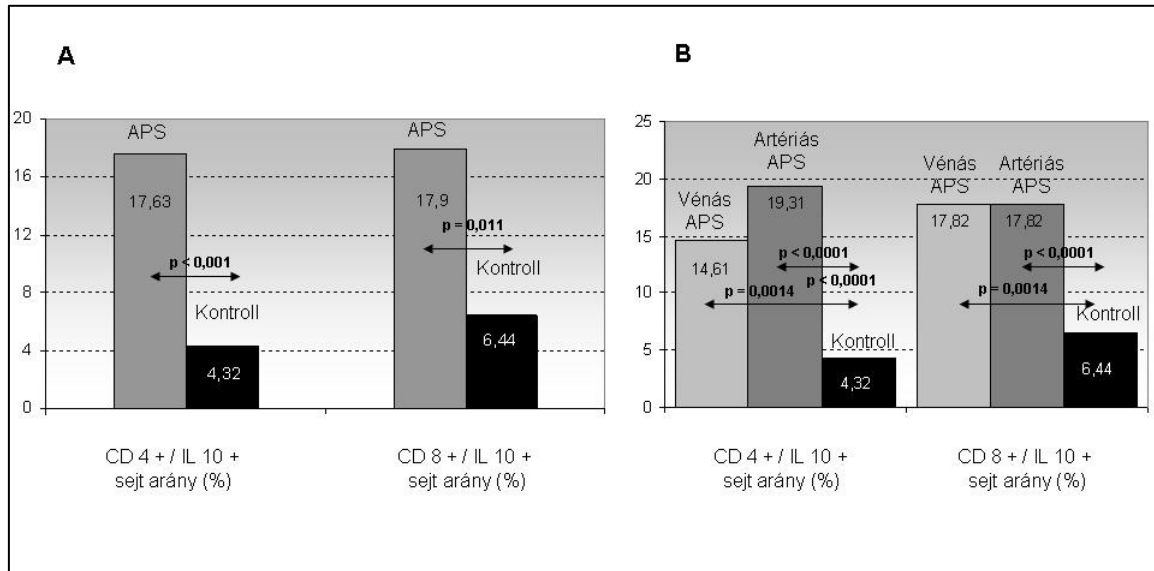
3. táblázat: A CD sejt arányok primer APS-ben és stabil coronaria betegek esetén

Az aktivált T-sejtek közül, a CD3+/HLADR+ és a CD3+/CD69+ sejtek százalékos aránya magasabbnak bizonyult a primer APS-esek esetében (10,4 ± 7,73 % vs. 12,23 ± 10,93 %, p=0,63 és 1,66 ± 1,61 % vs. 1,16 ± 1,01 %, p=0,27), azonban ez nem volt szignifikáns.

Vénás APS és artériás APS vs. stabil coronaria

A dupla pozitív T-limfociták (CD4+/IL10+ és CD8+/IL10+) tekintetében, ugyan nem volt szignifikáns különbség a primer APS vénás-, és artériás alcsoportjai között, azonban külön-külön, mindkettő esetén szignifikánsan magasabbnak adódott a CD4+ (vénás: 14,61 ± 13,42 % és artériás: 19,31 ± 12,39 % vs. stabil angina: 4,32 ± 5,83 %, p=0,0014 és p<0,0001) és CD8+ sejtek aránya, a kontroll stabil anginás betegcsoporthoz képest (vénás: 17,82 ± 12,42 %

és artériás: $17,82 \pm 10,56 \%$ vs. stabil angina: $6,44 \pm 7,24 \%$, $p=0,0014$ és $p<0,001$) (18. B ábra).



18. A ábra: A CD4+/IL10+ és a CD8+/IL10+ sejtek aránya a primer APS-es betegek szérumban, a kontroll stabil anginás betegekhez képest

18. B ábra: A vénás és artériás APS-es alcsoportok esetén a dupla pozitív sejtek aránya a kontroll stabil anginás csoporthoz, valamint egymáshoz képest

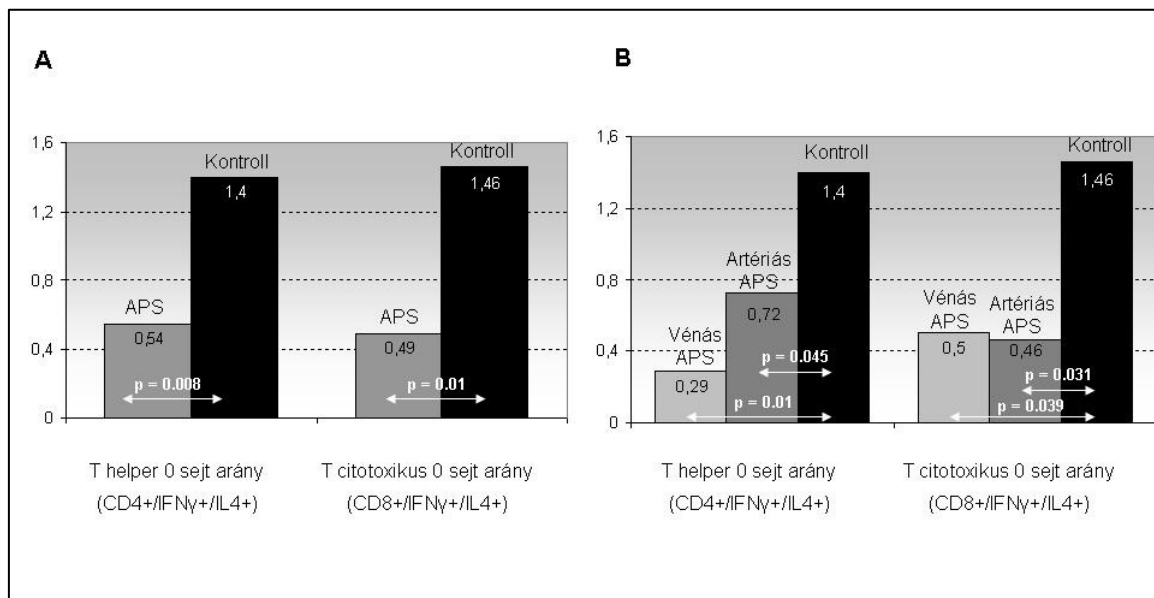
III/2. Tc0/Th0/Th1/Th2 sejt arány vizsgálata – intracelluláris citokin profil alapján

Primer APS vs. stabil angina

Az APS-es betegcsoportban a Th0 (CD4+/IFN γ +/IL4+) és a Tc0 (CD8+/IFN γ +/IL4) sejt arány ($0,54 \pm 0,85 \%$ vs. $1,4 \pm 1,68 \%$, $p=0,008$ és $0,49 \pm 0,47 \%$ vs. $1,46 \pm 2,08 \%$, $p=0,01$) szignifikánsan alacsonyabb volt, mint stabil coronaria esetén (19. A ábra), ugyanakkor a Th1 ($22,78 \pm 11,65 \%$ vs. $24,98 \pm 9,48 \%$) és Th2 ($0,31 \pm 0,35 \%$ vs. $0,45 \pm 2,08 \%$) sejtek százalékos arányát tekintve nem volt lényeges különbség a két csoport között.

Vénás APS és artériás APS vs. stabil coronaria betegség

A Th0, Tc0, Th1, Th2 sejtek arányát tekintve nem volt szignifikáns különbség az artériás és vénás APS-es alcsoportok között. Ugyanakkor stabil coronariával összehasonlítva az artériás-, és vénás alcsoportra bontott betegpopulációt, azt találtuk, hogy, a Th 0 (CD4+/IFN γ +/IL4+) és a Tc0 (CD8+/IFN γ +/IL4) sejtek aránya szignifikánsan alacsonyabb volt ezen alcsoportokban stabil coronariahoz képest ($0,29 \pm 0,27$ % és $0,72 \pm 1,05$ % vs. $1,4 \pm 1,68$ %, $p=0,01$ és $p=0,045$) és ($0,5 \pm 0,58$ % és $0,46 \pm 0,39$ % vs. $1,46 \pm 2,08$ %, $p=0,039$ és $p=0,031$) (19. B ábra).



19. A ábra: A Th0 és a Tc0 sejtek aránya primer APS-benl stabil anginás betegekhez képest

19. B ábra: A vénás és artériás APS-es alcsoport esetén a Th0 és a Tc0 sejtek aránya a stabil anginás kontrollokhoz képest

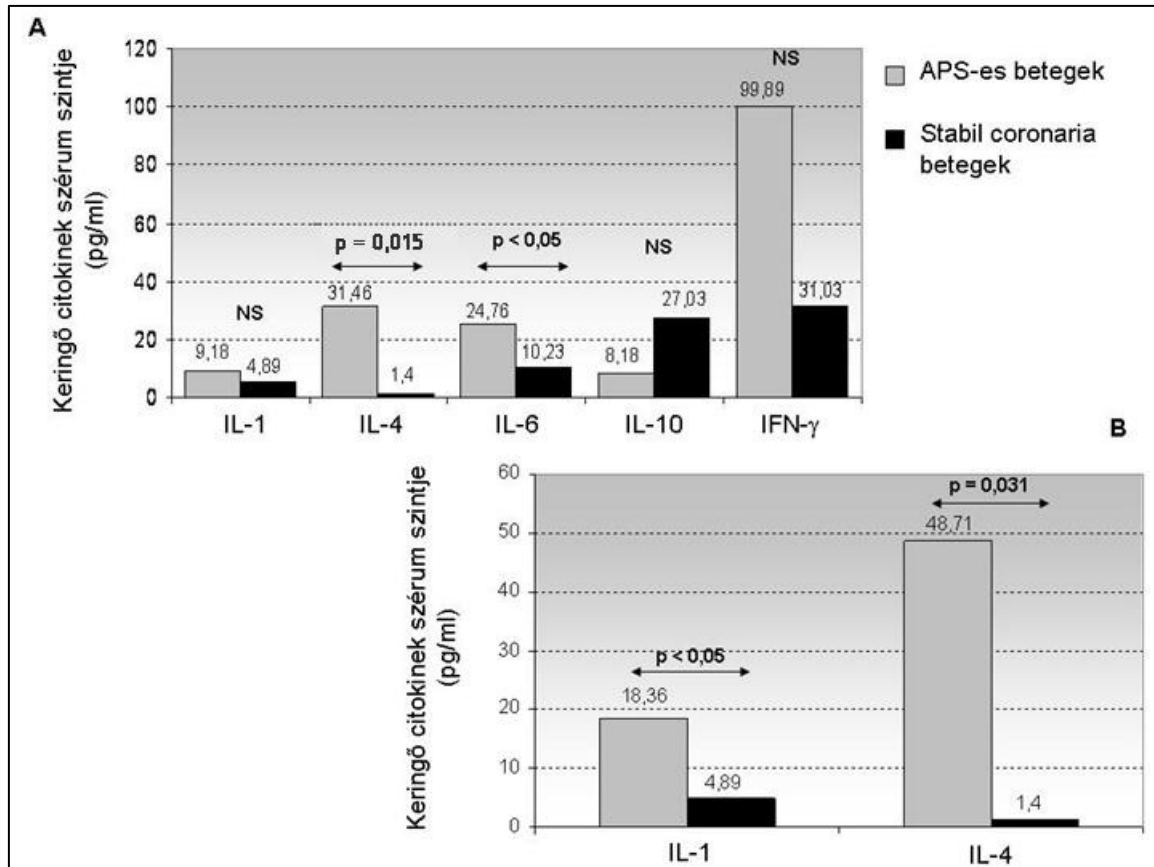
III/3. Keringő citokinek

Primer APS vs. stabil angina

A szérumban lévő citokinek közül az IFN- γ ($99,89 \pm 243,98$ pg/ml vs. $31,03 \pm 69,05$ pg/ml) és az IL-1 ($9,18 \pm 20,2$ vs. $4,89 \pm 10,93$ pg/ml) magasabb, míg az IL-4 ($31,46 \pm 60,69$ pg/ml vs. $1,4 \pm 3,23$ pg/ml, $p=0,015$) és IL-6 ($24,76 \pm 13,94$ pg/ml vs. $10,23 \pm 11,97$ pg/ml, $p < 0,05$) szignifikánsan magasabb titere volt kimutatható APS-ben. A szérumban lévő IL-10 ($8,18 \pm 10,21$ pg/ml vs. $27,03 \pm 70,18$ pg/ml) és IL-8 ($79,28 \pm 37,7$ pg/ml vs. $128,65 \pm 241,5$ pg/ml) szint is jelentősen ugyan, de nem szignifikáns mértékben volt alacsonyabb primer APS-ben, stabil coronaria betegséggel összehasonlítva (20. A ábra).

Vénás APS és artériás APS vs. stabil coronaria

A keringő citokinek szintjében nem volt jelentős különbség a két alcsoport között, azonban érdekesség, hogy a szérumban lévő IL-1 ($18,36 \pm 27,73$ pg/ml vs. $4,89 \pm 10,93$ pg/ml, $p < 0,05$) és IL-4 ($48,71 \pm 80,05$ pg/ml vs. $1,4 \pm 3,23$ pg/ml, $p=0,031$) szint artériás érintettségű APS-es betegcsoportban szignifikánsan magasabb volt a stabil coronaria betegek szérumszintjéhez viszonyítva (20 B ábra).

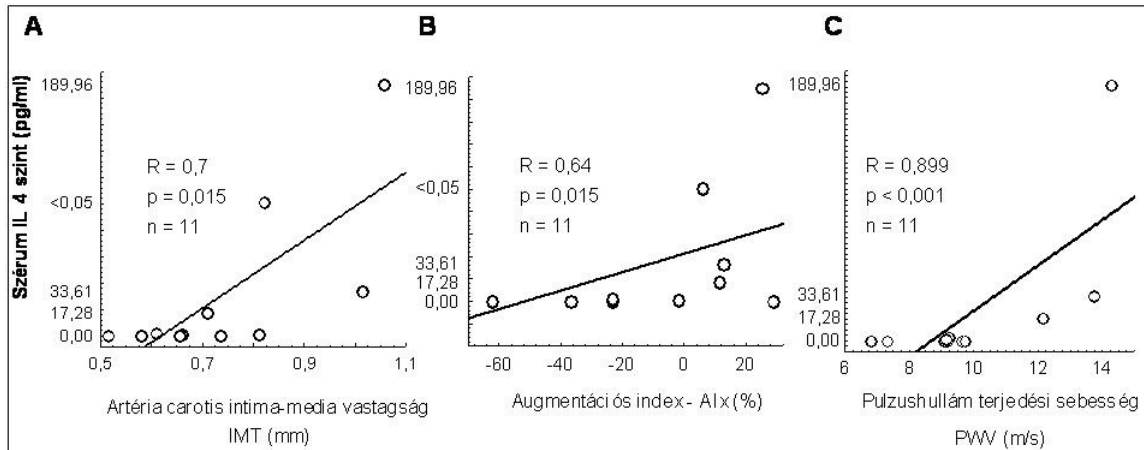


20. A ábra: A keringő citokinek szérumszintje APS-es és stabil coronaria betegek esetén

20. B ábra: Artériás érintettségű APS-es betegek IL-1 és IL-4 szintje a stabil coronaria betegekhez képest

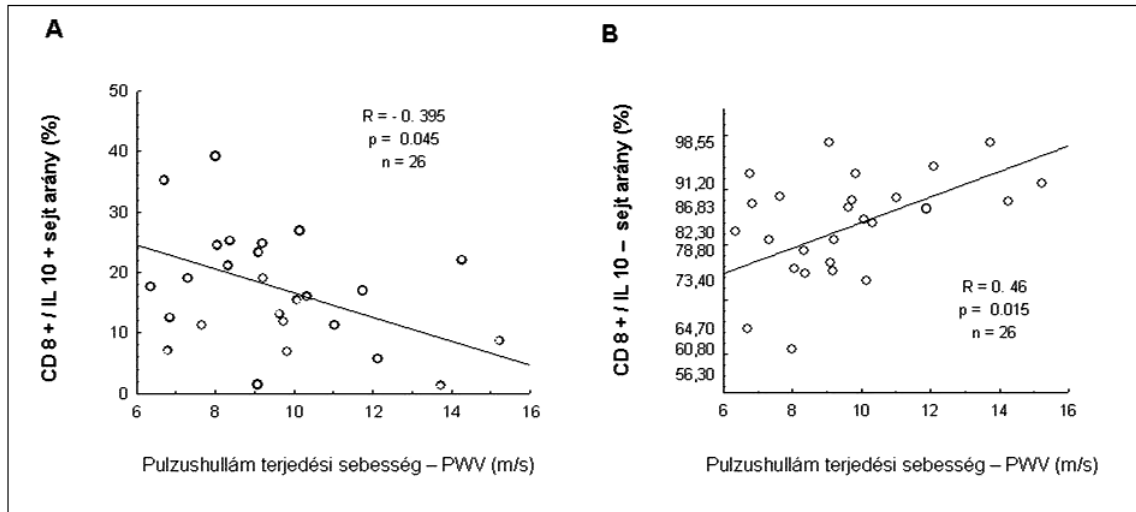
III/4. Az immunstátusz és az angiológiai paraméterek kapcsolata

A primer APS-es betegcsoport esetén talált angiológiai eltérések esetleges összefüggését vizsgálva az immuneltérésekkel, bizonyos immunparaméterek esetén statisztikailag viszonylag kevés mintaszám állt rendelkezésre, de emellett is a carotis IMT, az Aix és a PWV erős pozitív, lineáris összefüggését találtuk az IL-4 szérumszintjével ($R=0,7$ és $p=0,015$; $R=0,64$ és $p=0,015$; $R=0,899$ és $p<0,001$) (21. A, B, C. ábra).



21. A, B, C ábra: Antifoszfolipid szindrómás betegek szérum IL-4 szintjének kapcsolata a carotis IMT-vel, valamint a stiffness paramétereikkel

Igen érdekes a PWV és a CD8+/IL10+, valamint a CD8+/IL10- sejt arány kapcsolata is, mely szerint a PWV és a CD8+/IL10+ sejt arány között negatív lineáris ($R = -0,395$; $p = 0,045$) összefüggést találtunk (22. A ábra), ugyanakkor a PWV és a CD8+/IL10- sejt arány pozitív lineáris összefüggést mutatott egymással ($R = 0,46$; $p = 0,015$) (22. B ábra).

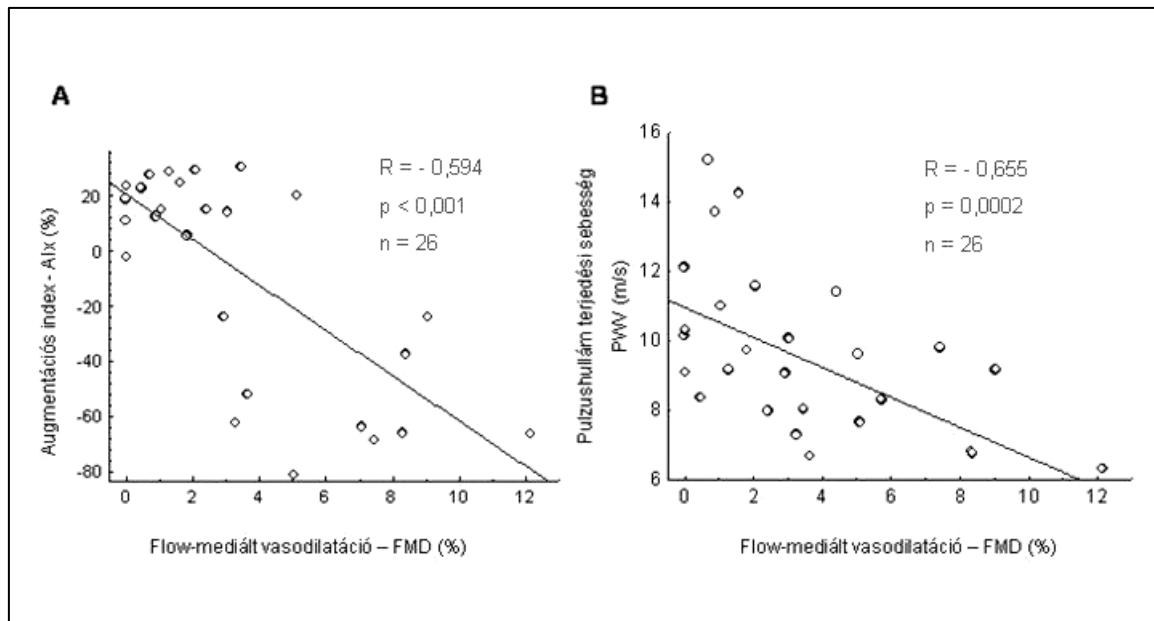


22. A ábra : A pulzushullám terjedési sebesség és a CD8+/IL10+ sejt arány közötti kapcsolat

22. B ábra : A CD8+/IL10- sejt arány kapcsolata a pulzushullám terjedési sebességgel

IV. Stiffness paraméterek összefüggései az endothel funkciós paraméterekkel primer antifoszfolipid szindrómában

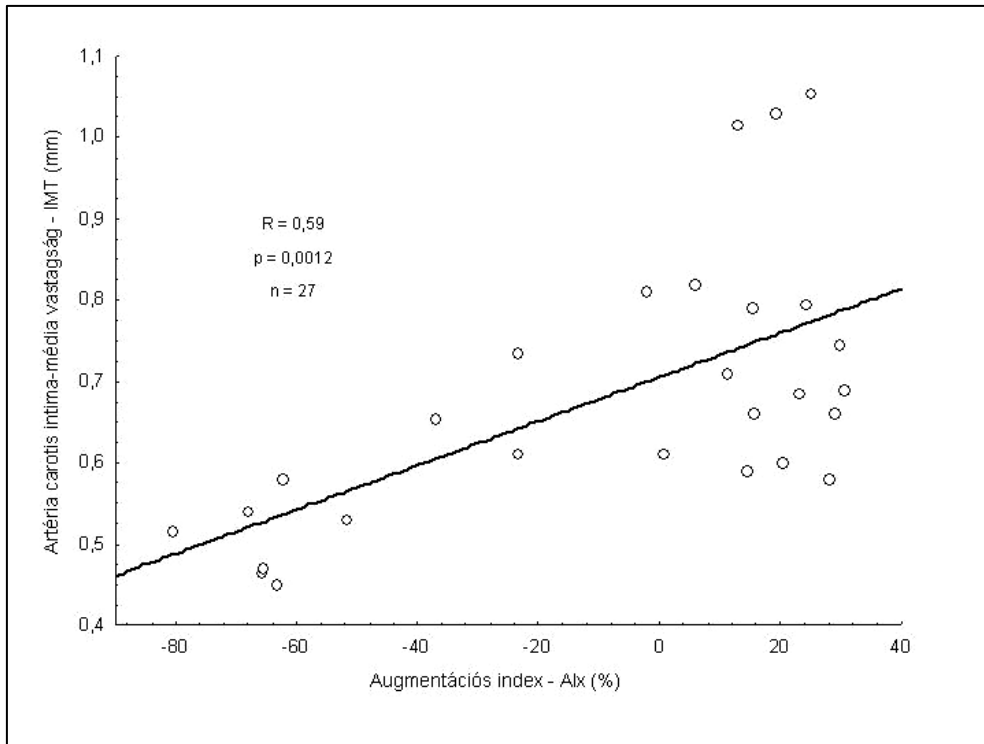
Vizsgálatainkkal primer antifoszfolipid szindrómában szignifikánsan alacsonyabb endothel-dependens vasodilatációt, valamint szignifikánsan nagyobb carotis intima-média vastagságot mutattunk ki. Az endothel funkciós paraméterek kapcsolatát vizsgálva a stiffness paraméterekkel az FMD erős negatív lineáris korrelációját találtuk az augmentációs indexszel (FMD–AIx: R= -0,594, p<0,001) (23. A ábra), valamint a pulzushullám terjedési sebességgel (FMD–PWV: R= -0,655, p= 0,0002) (23. B ábra).



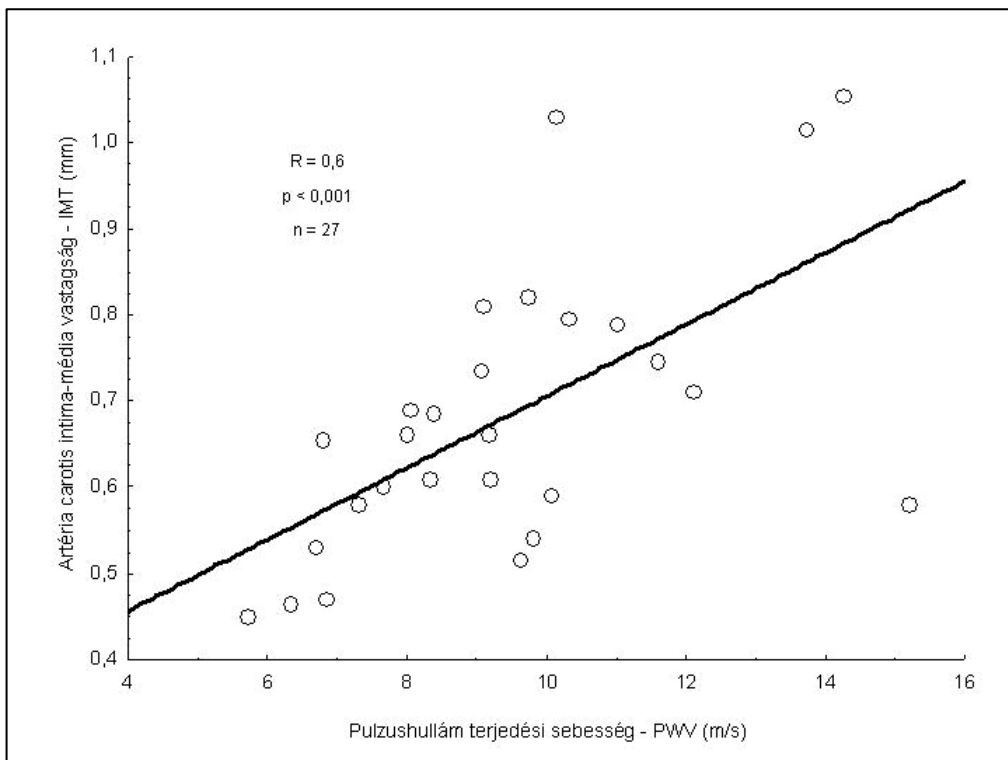
23. A ábra: Az érfali merevséget jelző augmentációs index korrelációja az FMD-vel

23. B ábra: A pulzushullám terjedési sebesség kapcsolata az FMD-vel primer APS-es betegeinknél

Az artéria carotis intima-média falvastagság pozitívan korrelált a stiffness paraméterekkel (IMT-AIx: $R = 0,59$, $p = 0,0012$; IMT-PWV: $R = 0,6$ és $p < 0,001$) (24. A és 24. B ábra).



24. A és B ábra: Az artéria carotis intima-média falvastagság összefüggése az augmentációs indexze és a pulzushullám terjedési sebességgel primer APS-ben



Megbeszélés

Az antifoszfolipid szindróma egy prothrombotikus állapot, melyet ismétlődő artériás, vénás trombózisok, vetélések, valamint cirkuláló antifoszfolipid antitestek jelenléte jellemez. Ezt a patológiai folyamatot direkt módon az antifoszfolipid antitestek képesek előidézni úgy, hogy az endothel sejteket proinflammatorikus és prokoaguláns irányban aktiválják, de lehetséges egy indirekt mechanizmus is, mely során egy szisztémás autoimmun mechanizmus részeként jelenik meg az autoantitest által mediált trombózis (32, 33). Mivel antifoszfolipid szindrómás betegeink a hagyományos rizikófaktorok tekintetében (hypercholesterinaemia, dohányzás, elhízás, diabetes mellitus, artériás hypertensio, mozgásszegény életmód) nem különböztek az átlagpopulációtól, felvetődik, hogy a betegségben észlelhető akcelerált atherosclerosis patogenezisében a hagyományos rizikófaktorok mellett új, APS specifikus tényezők is szerepet játszhatnak. 1993-ban Vaarala adta (34) első bizonyítékát, hogy a thrombophil állapot összefüggést mutat a korai atherosclerosis-sal, valamint annak akcelerációjával, és az autoantitesteknek szerepük lehet az atherosclerosis folyamatában. Az is felmerült már ekkor, hogy egyes antifoszfolipid antitestek képesek keresztreakcióba lépni az oxLDL-el, mint antigénnel. Egy tanulmány pedig az alsóvégtagok korai atherosclerosisát írta le APS-ben első tünetként (35). Három betegről írtak, akiknél szisztémás atherosclerosis jelentkezett, beleértve az aorta occlusiot, ezzel párhuzamosan az antikardiolipin antitestek emelkedett szintje, hyperhomociszteinaemia valamint egyéb rizikófaktorok voltak esetükben detektálhatók az SLE vagy a primer APS egyéb klinikai tünetei nélkül (36). Készült olyan prospektív tanulmány, amelyben 116 claudicatio intermittens-es beteg anyagát dolgozták fel, valamint vizsgálták ezen betegek körében a prothrombotikus faktorok gyakoriságát. A thrombophilia valamely formája kimutatható volt a betegek majd egynegyedében, míg a betegek több mint felében emelkedett antifoszfolipid antitest titer volt jellemző (37).

Munkacsoportunk 1519 antifoszfolipid antitest pozitív betegről (637 APS-es) készült retrospektív analíziséből az derült ki, az antifoszfolipid antitestek atherosclerosis progressziójában betöltött lehetséges szerepére vonatkozóan, hogy a vénás trombózis kialakulása gyakoribb azon betegek körében, akik lupus antikoaguláns pozitívak, szemben azokkal, akiknél IgG vagy IgM típusú egyéb antifoszfolipid antitest pozitivitás mutatható ki. Ugyanakkor ezen betegeknél pedig a coronaria, a carotis és a perifériás artériák trombózisa fordul elő magasabb arányban (38). A B2GPI a cél autoantigén APS-ben, képes komplexet képezni az oxLDL-el, mely komplex ellen irányuló autoantitesteket sikerült kimutatni 150 SLE-s és APS-es betegnél. Továbbá azt találták, hogy az artériás trombózison átesett primer APS-es betegek esetén szignifikánsan magasabb ezen antitestek szintje, azokhoz képest, akiknél vénás trombózis vagy vetélés szerepelt az anamnézisben. HSP, oxLDL és B2GPI expresszió mutatható ki az atherosclerotikus lézióon belül, valamint ezen autoantigénnel történő kísérletes immunizáció befolyásolja az atherosclerosis progresszióját (39). Munkacsoportunk vizsgálta a coronaria atherothrombosis és az antifoszfolipid antitestek kapcsolatát akut coronaria szindrómában. Az antifoszfolipid antitestek előfordulási gyakorisága 14,4 % volt és dominálón B2GPI antitestek voltak kimutathatóak (40).

Az, hogy az antifoszfolipid antitestek, valamint az APS független rizikófaktora lenne-e az érrelmeszesedésnek még nem egyértelműen tisztázott. Az erre irányuló tanulmányok többsége a szekunder APS-t is magába foglalja, és utal arra, hogy primer-, és szekunder APS-ben az atherosclerosis lefolyása eltérő. Jimenez és mtsai 70 SLE-s és 25 primer APS-es, valamint 40 egészséges nő esetén vizsgálták az artéria carotist. A három csoportban nem különbözött lényegesen az intima-média falvastagság, de a carotis plakkok előfordulása magasabb arányú volt az SLE-s betegeknél, szemben a primer APS-es betegcsoporttal, valamint a kontrollokkal. Ezen kívül a szekunder APS-es, SLE-s betegeknél magasabb volt a carotis plakkok gyakorisága, szemben azon SLE-s betegekkel, akiknél nem volt szekunder

APS (41). Nagy felbontású B-mód UH segítségével meghatározható az artéria carotis intima-média falvastagság és az atherosclerotikus plakk mértéke az artéria carotisokban, valamint a femoralis artériákban. Az IMT elfogadott, mint a korai atherosclerosist jelző paraméter. APS-ben mért intima-média falvastagságra vonatkozóan jelenleg kevés adat áll rendelkezésre. Ames és munkatársai 42 APS-es beteg (29 primer) esetén elemezték az IMT és az antifoszfolipid antitestek közötti kapcsolatot (42). A többszörös regressziós analízisben az antikardiolipin Ig G, az IMT független prediktorának bizonyult, mely tény az antikardiolipin Ig G erőteljes atherogén szerepét hangsúlyozza. Egyéb tanulmányok is, APS-es és SLE-s premenopausalis nőbetegeknél emelkedettebb IMT-t találtak. Ezen nőknél a carotis, valamint a femoralis plakkok előfordulási gyakorisága is magasabb volt, mely azonban nem volt magyarázható olyan hagyományos atherosclerotikus rizikófaktorokkal, mint életkor, lipid paraméterek, vagy kumulatív szteroid dózis (43). Bár e tanulmányban a vizsgált antifoszfolipid antitestek nem mutattak összefüggést az IMT-vel és nem volt szignifikáns különbség a betegek, valamint az egészséges kontroll személyeknél mért átlagos IMT között. Medina és mtsai 28 primer antifoszfolipid szindrómás és ugyanennyi egészséges kontroll személy esetén hasonlították össze a carotis IMT-t és azt az eredményt kapták, hogy a primer APS-es betegek IMT-je szignifikánsan vastagabb. Ezen kívül a magasabb IMT-vel rendelkező primer APS-es betegeknek háromszor nagyobb volt a stroke rizikója, mint azoknak, akiknél normál IMT-t találtak (44). Transcraniális dopplerrel vizsgálva olyan primer APS-es betegeket, akiknél magasabb volt az IMT, a szerzők kóros áramlási viszonyokat észleltek (44). Egyre több a bizonyíték, az antifoszfolipid antitestek lehetséges proatherogén szerepére vonatkozóan (41, 42, 43, 44, 45), de elgondolkodtató az is, hogy egyes alcsoportok védő hatásúak is lehetnek az atherosclerosissal szemben (46, 47). Az új biológiai markerek, a funkcionális és képalkotó vizsgálatok igen hasznosak lehetnek, és felértékelődnek abból a

szempontból, hogy alkalmasak az antifosfolipid szindrómás betegek fokozott cardiovascularis rizikójának kimutatásában.

Az angiológiai kutatások elmúlt 15 évében igen nagy előrelépést jelentett, azon non-invazív vizsgálati módszerek bevezetése, melyek alkalmasak az endothel diszfunkció illetve az atherosclerosis korai stádiumának detektálására. Ezen vizsgálómódszerek közül a flow-, és nitrát-mediált vasodilatáció, a carotis intima-média vastagság mérését, valamint az augmentációs index és a pulzushullám terjedési sebesség meghatározására alkalmas vizsgálati módszereket vezettük be klinikánkon rutinszerűen. További célunk volt munkánk során, hogy ezen vizsgálómódszereket alkalmazva új adatokkal szolgáljunk a primer antifosfolipid szindróma kutatásában.

Antifosfolipid szindrómában végzett kutatásainkkal kimutattuk, hogy a betegségben egyértelműen igazolható az endothel diszfunkció, azaz károsodott az artéria brachialis flow-mediált vasodilatációjának a mértéke. APS-es betegeink endothel funkciós paramétereit, Framingham-i rizikótényezőket tekintve a betegcsoporthoz illesztett egészséges kontroll személyek endothel funkciós eredményeivel összevetve, az FMD kifejezett károsodását találtuk, mely jelzi a szubklinikus atherosclerosis jelenlétét a betegségben. Az FMD-re adott kóros válasz, annak a következménye, hogy az endothel nem tud megfelelő nitrogén-monoxid termeléssel hozzájárulni, az egyébként „egészséges” artéria brachialis dilatációjához. Az APS-es betegek esetén mért NMD azonban nem mutatott lényeges különbséget az egészséges kontrolloknál mért értékhez képest, ugyanis a nitrát egy igen erős vasodilatátor, és amennyiben már ezzel sem érhető el vasodilatáció, az komoly érfal remodelling eltérést jelez, mely azonban nem jellemző primer APS korai szakaszában. A carotis intima-média falvastagság, mint az atherosclerosisban legkorábban észlelhető morfológiai elváltozás is, szignifikánsan vastagabbnak adódott primer APS-ben. A betegek mintegy felénél találtunk szignifikáns stenosiszt nem okozó carotis plakkot, míg a kontroll személyek esetén senkinél

sem. Vénás és artériás érintettség szempontjából megbontva betegeinket, azt találtuk, hogy mindkét alcsoportban, külön-külön, szignifikánsan alacsonyabb volt az FMD, valamint vastagabb az IMT, mint a kontroll csoportban, azonban, a két alcsoport között e tekintetben nem volt érdemi különbség. A korai atherosclerosis funkcionális, valamint morfológiai eltérés szempontjából jelző két paraméter, az FMD és a carotis IMT között kimutatott erős negatív lineáris korreláció igazolta jogosultságukat a korai eltérések felismerésében.

A stiffness paraméterek tekintetében is jelentős különbség adódott a betegek és a kontroll csoport között. Primer APS-ben kóros érfal merevségi paraméterként, megnövekedett augmentációs indexet és gyorsult pulzushullám terjedési sebességet mértünk. A kóros AIx negatív lineáris összefüggést mutatott az endothel diszfunkció mértékével, a megnövekedett carotis intima-média vastagsággal pedig pozitívan korrelált, azaz minél károsodottabb volt az FMD, annál magasabbnak, tehát kórosabbnak adódott az AIx értéke is. Az artéria brachialis flow-mediált vasodilatációjának és az arteriográf segítségével meghatározott augmentációs index értékének egyidejű összevetéséről nem találtunk adatot a szakirodalomban. Így logikusan vetődött fel a két módszerrel meghatározott eredmények összevetése, hiszen mindkettő a macrovasculatura állapotáról ad non-invazív módon értékelhető paramétert. Vizsgálatainkban arra kerestük a választ, hogy a két mérési módszer eredményei összefüggnek-e. Prospektív vizsgálatunk azt igazolta, hogy az artéria brachialis flow-mediált vasodilatációs módszerrel mért tágulékonysága és az augmentációs indexszel jellemzett érfali merevség, a dolgozat előző részeiben részletesen ismertetett módszerekkel mérve összefüggést mutat. Mindkét módszer lényege, hogy a mérés az artéria brachialisban történik, de a mérésből származtatott következtetések a teljes perifériás vasculaturára vonatkozhatnak. A referenciaként használt flow-mediált vasodilatációs módszerrel azt állapítottuk meg, hogy az arteriográffal mért augmentációs index jól használható az endothel diszfunkció gyors és non-invazív vizsgálatára.

Az angiológiai vizsgálatokkal párhuzamosan, immunturbidimetriás módszerrel endothel aktivációt jelző vonWillebrand faktor antigén szint meghatározás is történt. Ismert, hogy az ABO vércsoport típus lényegesen befolyásolja a plazma vWFAg szintjét, hiszen a vWF alegység nagymértékben glikozilált, és az N-oligoszacharidok pedig ABO vércsoport determinánsokkal rendelkeznek. A molekuláris szerkezetben jelen lévő A, B, és H antigének a vWF keringésben való jelenlétét és élettartamát befolyásolják, így eltérő vércsoportok esetén eltérőnek adódhat a vWF normál plazmaszintje (48, 49). Percy és mtsai 20 egészséges egyén vizsgálata során a 0-ás vércsoportú egyének vWF szintjét találta szignifikánsan alacsonyabbnak az A, B, vagy AB vércsoportú egyénekéhez képest (49). Vércsoport meghatározást nem végeztünk rutinszerűen az APS-es és a kontroll populációban, így a nemzetközileg elfogadott referencia tartományt vettük alapul vizsgálataink során, bár ismert az is, hogy egyes munkacsoportok specifikus ABO vércsoporthoz igazított referencia tartományok használatát javasolják (48). Áttekintve az irodalmi adatbázist több munkacsoport is igazolt emelkedett vWF antigén plazmaszintet APS-ben (50, 51), azonban arra vonatkozóan, hogy ennek emelkedett szintje milyen mértékben mutat vércsoportfüggést, tudomásunk szerint nincs nemzetközileg közölt adat. Primer APS-ben munkacsoportunk szignifikánsan magasabb vWF antigén szintet igazolt az egészséges kontrollokhoz képest. További összefüggést keresve az endothel diszfunkció és egyes endothel aktivációs paraméterek között, emelkedett antigén szintet találtunk azon primer APS-es betegek esetén, akiknél a vénás oldalon alakult ki trombózis, és ezen emelkedett szint korrelált az endothel diszfunkció mértékével ezen alcsoporton belül.

Primer APS-ben végzett immunológiai kutatásaink során azt vizsgáltuk, hogy perifériás vérből nyerhető immunológiai laborparaméterek, milyen mértékben jelzik a gyulladásos immunfolyamatokat, valamint a betegségben már korábbi vizsgálataink során igazolt endothel diszfunkciót. Korábbi vizsgálatainkkal az endothel diszfunkciót bizonyító

csökkent endothel-dependens vasodilatációs kapacitást, emelkedett carotis IMT-t, valamint pozitív lineáris összefüggést találtunk az Aix és PWV között. Feltételezhető, hogy APS-ben a vénás és artériás oldalon egyaránt jelen lévő endothel diszfunkció egy fokozott mértékű atherosclerosist indukál, és szereppel bír az artériás és vénás trombózisok kialakulásában is. APS-es betegek esetén az IL-4 és IL-6 szint szignifikánsan magasabbnak bizonyult. Az IL-4, az adaptív immunitás kulcsfontosságú regulátora, az immunológiai inflammációt közvetlenül jelző marker, melyet elsősorban az aktivált T-sejtek (Th2), a B-limfociták biológiailag legaktívabb helper sejtjei termelnek. Számos biológiai szereppel bíró citokin, az aktivált B-sejtek proliferációjának, differenciálódásának és stimulációjának induktora (52, 53, 54), részt vesz a T-sejt proliferációban, valamint CD4+ T sejtek Th2 sejtekké történő differenciálódásában. A B-sejt aktivációt az MHC II. antigének up-regulációján keresztül indukálja (55). Igen érdekes adat, hogy az endothel diszfunkciót jelző markerek, mint az IMT, Aix és PWV pozitívan korelááltak szintjével, utalva ezzel az IL-4 endothel diszfunkciót, fokozott atherosclerosist indukáló kulcsszerepére, hozzájárulva a vénás és artériás oldal atherothrombotikus folyamataihoz.

Az IL-6 legfőbb forrásai in vivo a stimulált monociták, fibroblastok, endothel sejtek, míg a makrofágok, a T-sejtek, a B-limfociták és a granulociták szintén termelnek IL-6-ot stimulációt követően. Az IL-6 képes, a megelőzően IL-4 által aktivált B-sejtek immunglobulint termelő plazmasejtté való végső átalakulását -, és a plazmasejtek antitest szekrécióját indukálni (56, 57).

Az IL-4-el és IL-10-el jellemezhető Th2 irányú aktiváció az autoreaktív B-sejtes patológiás útvonalat jelzi, melynek következtében generálódó antifoszfolipid antitestek közvetlen endothel ellenes hatással bírnak. A szérumban IL-8 és IL-10 szintet alacsonyabbnak találtuk APS-ben. Az IL-10 hatása komplex és sokféle, nagymértékben befolyásolja a B-sejtek aktivációjának állapotát. A kezdeti aktiváció során negatív regulátorként a B-sejt apoptózist

támogatja, ugyanakkor B-sejt differenciálódást indukál az aktivációt követő későbbi immunválasz folyamán (58). Számos citokin termelődését - mint IFN- γ , IL-4, IL-5, növekedési faktor és kemokin szekrécióját képes gátolni, ez által az autoimmun folyamatok és az allergiás betegségek kulcsregulátora. A csökkent IL-10 szint, a proinflammatorikus citokinek elégtelen regulációját eredményezve, kapcsolatba hozható ezen gyulladáso autoimmun folyamatok fenntartásával (59). A regulátor IL-10 termelő CD8+ sejtek negatív, míg az IL-10-et nem termelő CD8+ sejtek százalékos arányának pozitív lineáris összefüggése a pulzushullám terjedési sebességgel is bizonyítékul szolgál ezen citokin endothel diszfunkcióval-, valamint az atherothrombotikus folyamatokkal való kapcsolatát illetően APS-ben.

Eredményeiket összegezve kiemelendő, hogy a három általunk alkalmazott módszer egymást kiegészítve alkalmas az immunrendszer citokin produkciójának és aktivációjának különböző fázisait megjeleníteni. A különböző immun-kompetens sejtek a proinflammatorikus folyamatokat irányítva, végső soron intracelluláris és szolubilis citokin termelődéshez vezetnek, aktiválva ezáltal a keringő limfocita-készletet, hozzájárulva ezáltal APS-ben a folyamatosan fennálló endothel diszfunkció, valamint az artériás és vénás oldalon kialakuló atherothrombotikus folyamatok kialakulásához.

Az autoimmun kaszkád lényeges résztvevőit áttekintve, új biológiai célpontok azonosíthatók (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 citokin célpontok), lehetőséget adva ezzel olyan biológiai terápiák bevezetésére, melyekkel primer APS-ben az immun-mediált endothel diszfunkció mértéke csökkenthető.

Longitudinális vizsgálatainkkal az egyes gyógyszerek endothel funkcióra gyakorolt hatását vizsgálva bizonyítottuk, hogy a betegségben krónikusan jelen lévő endothel diszfunkció mértéke és a kórosan emelkedett artériás stiffness értéke csökkenthető. Az utánkövetett betegeinket a társuló cardiovascularis szövődményektől függően terápiás

csoportokba osztva, mind az ACE-gátlót, mind a statint szedők esetén az FMD, az AIX és a PWV jelentős javulását tapasztaltuk. Eredményeink azt mutatták, hogy az ACE-gátlók a perifériás vascularis rezisztencia csökkentése révén nagyobb mértékben javították az érfali merevséget jelző augmentációs indexet mint a statinok. A statinok kifejezettebben az endothel-dependens vasodilatációs kapacitást növelték, ezzel szemben az ACE-gátlók a stiffness paraméterekre hatottak markánsabban. A dohányzás elhagyása is egyértelműen javította az endothel funkciót. Mindezen eredményeink alapján logikusnak véljük a prospektív klinikai vizsgálatok folytatását. A két, APS-es grávida utánkövetése során az FMD értékének változása összefüggést mutatott az antifoszfolipid antitestek szintjével, illetve kóros titer emelkedésük befolyásolta a terhesség kimenetelét is.

APS-ben az atherosclerosis terápiáját illetően, minden hagyományos rizikófaktort agresszíven kell kezelni, beleértve a hypercholesterinaemiát, diabetest, dohányzást, elhízást, a mozgásszegény életmódot. A thrombocyta ellenes és az antikoaguláns terápia alkalmazásával a cél az ismétlődő trombózisok kivédése, de megfontolandó a folsav, a B-vitaminok, a koleszterin szint csökkentők (elsősorban statinok) és a hydroxycycloquine alkalmazásának lehetősége is. Annak ellenére, hogy ezen ágensek valószínűleg befolyásolják az atherosclerosis lefolyását APS-ben, jelenleg nem áll rendelkezésre olyan bizonyíték, mely egyértelműen alátámasztaná ezt.

Új eredmények

1. Primer antifoszfolipid szindrómában 44 beteg esetén volt alkalmunk vizsgálni az endothel funkciós paramétereiket, és új eredményként mutattuk ki ezen betegcsoportban az artéria brachialis flow-mediált vasodilatációjának kifejezett károsodását, valamint a kórosan megnövekedett artéria carotis intima-média falvastagságot. Az angiológiai paraméterek kapcsolatát tekintve a flow-mediált vasodilatáció és a carotis IMT között negatív lineáris korreláció igazolódott.

2. Az angiológiai vizsgálatokkal párhuzamosan vonWillebrand faktor antigén szérumszint meghatározását is elvégeztük, és primer APS-ben szignifikánsan magasabb szintjét igazoltuk. További összefüggésként azt találtuk, hogy a vWF antigén szint magasabb volt azon primer APS-es betegek plazmájában, akiknél a vénás oldalon alakult ki trombózis, és ezen emelkedett szint korrelált az endothel diszfunkció mértékével ezen alcsoporton belül.

3. Antifoszfolipid szindrómában longitudinális vizsgálatokat végezve, az egyes gyógyszerek endothel funkcióra gyakorolt hatását követve 25 beteg esetén, azt találtuk, hogy azon terápiás alcsoportban, ahol ACE-gátló került bevezetésre, jelentős endothel funkció-, valamint augmentációs index javulás volt elérhető.

4. Két, primer antifoszfolipid szindrómás terhes nő esetében folyamatosan követtük az endothel funkciós, valamint az érfali merevséget jelző angiológiai paraméterek változását a terhességük alatt, melyekkel párhuzamosan laborvizsgálatot is végeztünk az antifoszfolipid antitest titerben bekövetkező változások folyamatos követésére. Mindkét gravida esetén az endothel funkció romlásával párhuzamosan jelentős antitest titer emelkedést sikerült kimutatnunk.

5. A primer antifoszfolipid szindróma immunológiai sajátosságait vizsgálva szignifikánsan magasabb CD4+/ IL10+ és CD8+ /IL10+ sejt arányt mutattunk ki. Ezen immunológiai eltérés a vénás és az artériás APS-es alcsoportokban egyaránt jelen van. Az antifoszfolipid szindrómás betegek fokozott immuno-inflammatorikus aktivitására utal a stabil coronaria betegekkel szemben, hogy a CD4 pozitív és CD8 pozitív sejt arány már a korai, még el nem kötelezett stádiumban is magasabb. A keringő citokinek közül APS-ben az IL-4 és az IL-6 szintje bizonyult szignifikánsan magasabbnak stabil coronariahoz képest, míg artériás érintettségű APS-es betegek esetén az IL-1 is jelentősen emelkedett volt.

6. Primer antifoszfolipid szindrómában észlelt angiológiai eltéréseket elsőként vetettük össze a betegek jellemző immunológiai eltéréseivel. Azt találtuk, hogy a carotis IMT, az Aix és a PWV erős pozitív, lineáris összefüggést mutatott az IL-4 szérumszintjével. Figyelemre méltó volt pulzushullám terjedési sebesség negatív lineáris kapcsolata a CD8+/IL10+ sejt aránnyal, valamint pozitív lineáris összefüggése a CD8+/IL10- sejt aránnyal.

7. Az endothel funkciós paraméterek kapcsolatát vizsgálva a stiffness paraméterekkel primer APS-ben, az FMD erős negatív lineáris korrelációját találtuk az érfali merevséget jelző augmentációs indexszel, valamint a pulzushullám terjedési sebességgel. A funkcionális károsodást jelző endothel diszfunkció mellett, a definitív érfali károsodásra utaló carotis IMT is pozitív lineáris összefüggést mutatott a stiffness paraméterekkel.

Összefoglalás

Az antifoszfolipid szindróma egy autoantitestes patomechanizmusú szerzett thrombophil állapot. A patológiás autoantitestek különösen az anti B2GPI ellenes ellananyag hatását endothel ellenes aktivitással hozza létre. Az endothelhez kötődve prothrombotikus és proinflammatorikus irányba tolja el annak funkcióját. Ezen funkcióváltozások olyan érzékeny angiológiai módszerekkel detektálhatók, mely módszerek klinikai hasznosíthatósága napjaink orvosi diagnosztikájában már jelen van. Ezért tűztük ki azt a célt, hogy primer antifoszfolipid szindróma immuno-inflammatorikus eltéréseit döntően az aktivációs citokinek elemzésével modellezzük, illetve párhuzamosan vessük össze az endothel diszfunkciót jelző angiológiai paraméterekkel. Ennek eredményeként olyan új adatokat nyerünk a primer antifoszfolipid szindrómáról, mely segít egyfelől a patomechanizmus feltárásban, másfelől a klinikai tünetek alapját képező angiológiai elérések megismerésében. Igazolni tudtuk a T-sejtes aktivációt, az aktiváció irányultságában pedig, a Th2 dominanciát. A párhuzamosan végzett funkcionális és morfológiai vizsgálatainkkal pedig, endothel diszfunkcióra jellemző kóros artériás tágulékonyságot, korai atherosclerosisra már jellemző kóros érfali merevséget, az atherosclerosis korai manifesztációját jelző carotis IMT megvastagodását észleltük. Az immuno-inflammatorikus és az angiológiai paraméterek között összefüggést is találtunk, a szolubilis IL 4 és a carotis IMT, illetve pulzushullám terjedési sebesség és augmentációs index tekintetében. Hasonlóan összefüggést találtunk a CD8 pozitív sejtek aránya és a pulzushullám terjedési sebesség értéke között, illetve ezen esetekben kettős festéssel, az IL10 reguláló hatását is be tudtuk mutatni. Az eredmények hasznosak lehetnek a későbbi biológiai terápiák megtervezésénél.

Summary

APS is an autoantibody-mediated acquired thrombotic state. Pathological autoantibodies, mainly anti-B2GPI has anti-endothelial activity. By binding to the endothelial cells it shifts the endothelial cells towards a prothrombotic and proinflammatory state. These functional changes can be detected with sensitive angiological methods, which are already present in the current diagnostic repertoire. The aim of the study was therefore to model the immune-inflammatory changes mediated by cytokines in primary APS, in parallel with the assessment of angiological parameters, reflecting the endothelial dysfunction. We gained new information on primary APS, which aids in the better understanding of the pathomechanism, on the other hand helps to identify angiological disturbances behind the clinical symptoms. We could verify T-cell activation signified by a predominant Th2 response. With the aid of the parallel functional and morphological assessment, we found abnormal arterial elasticity, signifying endothelial dysfunction, pathological arterial stiffness, characteristic to early atherosclerosis, and the early sign of atherosclerosis, the increment in carotid IMT.

We found a correlation between the immuno-inflammatory and angiological parameters, soluble IL4 and carotid IMT, as well as pulse wave velocity (PWV) and augmentation index. We found a similar association between the percentages of CD8+ cells and PWV; also within CD8+ cells, we could identify regulatory intracellular IL10+ cells. Our results could be important in the development of biological therapies in the future.

Irodalomjegyzék

1. Asherson R.A., Cervera R., Piette J.C., Shoenfeld Y., Espinosa G., Petri M.A., Lim E., Lau T.C., Gurjal A., Jedryka-Góral A., Chwalinska-Sadowska H., Dibner R.J., Rojas-Rodríguez J., García-Carrasco M., Grandone J.T., Parke A.L., Barbosa P., Vasconcelos C., Ramos-Casals M., Font J., Ingelmo M. Catastrophic antiphospholipid syndrome: clues to the pathogenesis from a series of 80 patients. *Medicine*. 80: 355-377, 2001.
2. Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T., Branch D.W., Brey R.L., Cervera R., Derksen R.H., De Groot P.G., Koike T., Meroni P.L., Reber G., Shoenfeld Y., Tincani A., Vlachoyannopoulos P.G., Krilis S.A. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 4: 295-306, 2006.
3. Bick R.L., Baker W.F. Antiphospholipid syndrome and thrombosis. *Seminars Thromb. Haemost.* 25: 333-350, 1999.
4. Riboldi P., Gerosa M., Raschi E., Testoni C., Meroni, P.L. Endothelium as a target for antiphospholipid antibodies. *Immunobiology*. 207: 29-36, 2003.
5. Dunoyer-Geindre S., de Moerloose P., Galve-de Rochemonteix B., Reber G., Kruithof E.K. NFkappaB is an essential intermediate in the activation of endothelial cells by anti-beta(2)-glycoprotein 1 antibodies. *Thromb. Haemost.* 88: 851-857, 2002.
6. Galli M., Comfurius P., Maasen C., Hemker H.C., de Baets M.H., Van Breda-Vrieasman P.J., Barbui T., Zwaal R.F., Bevers E.M. Anticardiolipin antibodies (ACA) are directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet*. 335: 1544-1547, 1990.
7. McNeil H.P., Simpson R.J., Chesterman C.N., Krilis S.A. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: B2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 87: 4120-4124, 1990.

8. Cosgriff T.M., Martin B.A. Low functional and high antigenic antithrombin III level in patient with the lupus anticoagulant and recurrent thrombosis. *Arthritis Rheumatol.* 24: 94-96, 1981.
9. Freysinnet J.M., Wiesel M.L., Gauchy J., Boneu B., Cazenave J.P. An IgM lupus anticoagulant that neutralizes the enhancing effect of phospholipid on purified endothelial thrombomodulin activity – a mechanism for thrombosis. *Thrombosis Haemost.* 55: 309-316, 1986.
10. Marciniak E., Romond E.H. Impaired catalytic function of activated protein C: a new in vitro manifestation of lupus anticoagulant. *Blood.* 74: 2426-32, 1989.
11. Forastiero R.R., Martinuzzo M.E., Cerrato G.S., Kordich L.C., Carreras L.O. Relationship of anti beta2-glycoprotein I and anti prothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost.* 78: 1008-1014, 1997.
12. Meroni P.L., Raschi E., Testoni C., Tincani A., Balestrieri G. Antiphospholipid antibodies and the endothelium. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 27: 587-602, 2001.
13. Pierangeli S.S., Harris E.N. Probing antiphospholipid-mediated thrombosis: the interplay between anticardiolipin antibodies and endothelial cells. *Lupus.* 12: 539-545, 2003.
14. Vaarala O.: Antibodies to oxidised LDL. *Lupus.* 9: 202-205, 2000.
15. Hasunuma Y., Matsuura E., Makita Z., Katahira T., Nishi S., Koike T. Involvement of beta2-glycoprotein I and antibodies in oxigatively modified low-density lipoprotein uptake by macrophages. *Clin. Exp. Immunol.* 107: 569-573, 1997.
16. Matsuura E., Kobayashi K., Inoue K., Lopez L.R., Shoenfeld Y. Oxidized LDL/beta2-glycoprotein I complexes: new aspects in atherosclerosis. *Lupus.* 14: 736-741, 2005.
17. Celermayer D.S., Sorensem K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 340: 1111-1115, 1992.

18. Corretti M.C., Anderson T.J., Benjamin E.J., Celermajer D.S., Charbonneau F., Creager M.A., Deanfield J., Drexler H., Gerhard-Herman M., Herrington D., Vallance P., Vita J., Vogel R. Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilatation of the Brachial Artery. *J Am Coll Cardiol.* 39: 257-265, 2002.
19. Nagy L., Bajkó S., Fábrián E., Farkas K., Fazekas., Forster T., Járai Z., Kolozsvári E., Kovács I., Pálinkás A., Pécsvárady ZS., Ronaszéki A., Varga A., Vereczkey G. Hungarian consensus for the examination of flow-dependent, flow-mediated vasodilatation of brachial artery. *Érbetegségek.* 10: 47-50, 2003.
20. Pignoli P., Tremoli E., Poli A., Oreste P., Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation.* 74: 1399-1406, 1986.
21. Ludwig M., Petzinger-Kruthoff A.V., Buquoy M.V., Stumpe K.O. Intima Media Thickness of the Carotid Arteries: Early Pointer to Atherosclerosis and Therapeutic Endpoint. *Ultraschall in Med.* 24: 162-174, 2003.
22. Baulmann J., Schillings U., Rickert S., Uen S., Düsing R., Illyes M., Cziraki A., Nickering G., Mengden T. A new oscillometric method for assessment of arterial stiffness: comparison with tonometric and piezo-electronic methods. *J Hypertens.* 26: 523-528, 2008.
23. Weissberg P.L. Coronary Disease Atherogenesis: Current understanding of the causes of atheroma. *Heart.* 83: 247-252, 2000.
24. Magometchnigg D. Blood pressure and arterial stiffness. A comparison of two devices for measuring augmentationindex and pulse wave velocity. *Wien Med Wochenschr.* 155: 404-410, 2005.
25. Baulman J., Homsí R., Uen S., Düsing R., Fimmers R., Vetter H., Mengden T. Arterial stiffness in arterial hypertension. A new risk factor for left ventricular hypertrophy and cardiac insufficiency? *Dtsch Med Wochenschr.* 9: 447-452, 2004.

26. Blacher J., Pannier B., Guerin A.P., Marchais S.J., Safar M.E., London G.M. Carotid Arterial Stiffness as a Predictor of Cardiovascular and all- Cause Mortality in End-Stage Renal disease. *Hypertension*. 32: 570-574, 1998.
27. Lima D.S., Sato E.I., Lima V.C., Miranda R. Jr, Hatta F.H. Brachial endothelial function is impaired in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 29: 292-297, 2002.
28. Hürlimann D., Forster A., Noll G., Enseleit F., Chenevard R., Distler O., Béchir M., Spieker L.E., Neidhart M., Michel B.A., Gay R.E., Lüscher T.F., Gay S., Ruschitzka F. Anti Tumor Necrosis Factor- α Treatment Improves Endothelial Function in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Circulation*. 106: 2184-2187, 2002.
29. Vaudo G., Marchesi S., Gerli R., Allegrucci R., Giordano A., Siepi D., Pirro M., Shoenfeld Y., Schillaci G., Mannarino E. Endothelial dysfunction in young patients with rheumatoid arthritis and low disease activity. *Ann Rheum Dis*. 63: 31-35, 2004.
30. Moens A.L., Goovaerts I., Claeys M.J., Vrints C.J. Flow-Mediated Vasodilation. A Diagnostic Instrument, or an Experimental Tool? *Chest*. 127: 2254-2263, 2005.
31. Kanters S.D., Algra A., van Leeuwen M.S., Banga J.D. Reproducibility of in vivo carotid intima-media thickness measurements. *Stroke*. 28: 665–671, 1997.
32. Shoenfeld Y., Harats D., George J. Atherosclerosis and the antiphospholipid syndrome: a link unravelled? *Lupus*. 7 (suppl): 140–143, 1998.
33. Jara L.J., Medina G., Vera-Lastra O., Shoenfeld Y. Atherosclerosis and antiphospholipid syndrome. *Clin Rev Allergy Immunol*. 25: 79–87, 2003.
34. Vaarala G., Alfthan G., Jauhiainen M., Leirisalo-Repo M., Aho K., Palosuo T. Crossreaction between antibodies to oxidised low-density lipoprotein and to cardiolipin in systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 341: 923–925, 1993.

35. Levy P.J., Cooper C.F., Gonzalez M.F. Massive lower extremity arterial thrombosis and acute hepatic insufficiency in a young adult with premature atherosclerosis associated with hyperlipoproteinaemia and antiphospholipid syndrome. *Angiology*. 46: 853–858, 1995.
36. Spronk P.E., Overbosch E.H., Schut N.H. Severe atherosclerotic changes, including aortic occlusion, associated with hyperhomocysteinaemia and antiphospholipid antibodies. *Ann Rheum Dis*. 60: 699–701, 2001.
37. Evans S.M., Brittenden J., Adam D.J., Ludlam C., Bradbury A.W. Vascular surgical society of Great Britain and Ireland: prevalence and significance of thrombophilia in patients with intermittent claudication. *Br J Surg*. 86: 702–703, 1999.
38. Soltesz P., Veres K., Lakos G., Kiss E., Muszbek L., Szegedi G. Evaluation of clinical and laboratory features of antiphospholipid syndrome: a retrospective study of 637 patients. *Lupus*. 12: 302–307, 2003.
39. Lopez D., Kobayashi K., Merrill J.T., Matsuura E., Lopez L.R. IgG autoantibodies against beta2-glycoprotein I complexed with a lipid ligand derived from oxidized low-density lipoprotein are associated with arterial thrombosis in antiphospholipid syndrome. *Clin Dev Immunol*. 10: 203–211, 2003.
40. Veres K., Lakos G., Kerényi A., Szekanecz Z., Szegedi G., Shoenfeld Y., Soltész P. Antiphospholipid antibodies in acute coronary syndrome. *Lupus*. 13: 423-7, 2004.
41. Jimenez S., Garcia-Criado M.A., Tassies D., Reverter J.C., Cervera R., Gilabert M.R., Zambon D., Ros E., Bru C., Font J. Preclinical vascular disease in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Rheumatology*. 44: 756–761, 2005.
42. Ames P.R., Margarita A., Delgado Alves J., Tommasino C., Iannaccone L., Brancaccio V. Anticardiolipin antibody titre and plasma homocysteine level independently predict intima media thickness of carotid arteries in subjects with idiopathic antiphospholipid antibodies. *Lupus*. 11: 208–214, 2002.

43. Vlachoyiannopoulos P.G., Kanellopoulos P.G., Ioannidis J.P., Tektonidou M.G., Mastorakou I., Moutsopoulos H.M. Atherosclerosis in premenopausal women with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus: a controlled study. *Rheumatology*. 42: 645–651, 2003.
44. Medina G., Casaos D., Jara L.J., Vera-Lastra O., Fuentes M., Barile L., Salas M. Increased carotid artery intima-media thickness may be associated with stroke in primary antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis*. 62: 607–610, 2003.
45. Ames P.R., Margarita A., Sokoll K.B., Weston M., Brancaccio V. Premature atherosclerosis in primary antiphospholipid syndrome: preliminary data. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64: 315–317.
46. Shoenfeld Y., Wu R., Dearing L., Matsuura E. Are anti-oxLDL antibodies pathogenic or protective? *Circulation*. 110: 2552–2558, 2004.
47. Nicolo D., Goldman B.I., Monestier M. Reduction of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice by passive administration of antiphospholipid antibody. *Arthritis Rheum*. 48: 2974–2978, 2004.
48. Gill J.C., Endres-Brooks J., Bauer P.J., Marks W.J. Jr., Montgomery R.R. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood*. 69: 1691-1695, 1987.
49. Percy M.E., Rusk A.C., Garvey M.B., Freedman J.J., Teitel J.M., Blake P., Carter C., Andrew M., Johnson M., Inwood M. Carrier detection in hemophilia A: ABO blood group, multiple measurements, and application of logistic discrimination. *Am J Med Genet*. 31: 871-879, 1988.

50. Lindsey N.J., Dawson R.A., Henderson F.I., Greaves M., Hughes P. Stimulation of von Willebrand factor antigen release by immunoglobulin from thrombosis prone patients with systemic lupus erythematosus and the anti-phospholipid syndrome. *Br J Rheumatol.* 32: 123-126, 1993.
51. Meroni P.L., Borghi M.O., Raschi E., Ventura D., Sarzi Puttini P.C., Atzeni F., Lonati L., Parati G., Tincani A., Mari D., Tedesco F. Inflammatory response and the endothelium. *Thromb Res.* 114: 329-334, 2004.
52. Boulay J.L., Paul W.E. The interleukin-4 family of lymphokines. *Current Opinion in Immunology.* 4: 294-298, 1992.
53. Swain S.L., McKenzie D.T., Dutton R.W., Tonkonogy S.L., English M. The role of IL4 and IL5: characterization of a distinct helper T cell subset that makes IL4 and IL5 (Th2) and requires priming before induction of lymphokine secretion. *Immunol Rev.* 102: 77-105, 1998.
54. Tonkonogy S.L., McKenzie D.T., Swain S.L. Regulation of isotype production by IL-4 and IL-5. Effects of lymphokines on Ig production depend on the state of activation of the responding B cells. *J Immunol.* 142: 4351-60, 1989.
55. Yokota T., Otsuka T., Mosmann T., Banchereau J., DeFrance T., Blanchard D., De Vries J.E., Lee F., Arai K. Isolation and characterization of a human interleukin cDNA clone, homologous to mouse B-cell stimulatory factor 1, that expresses B-cell- and T-cell-stimulating activities. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 83: 5894-5898, 1986.
56. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine 40 years in immunology. *Annu Rev Immunol.* 23: 1- 21, 2005.
57. Hirano T. Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease. *Clin Immunol Immunopathol.* 62: 60-65, 1992.
58. Itoh K., Hirohata S. The role of IL-10 in human B cell activation, proliferation, and differentiation. *J Immunol.* 154: 4341-50, 1995.

59. Lotz M.K. Cytokines and their receptors. In: Koopman WJ ed. Arthritis and Allied Conditions. Textbook of Rheumatology. 14th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 436-477, 2001.

Függelék

A Phd értekezés alapjául szolgáló közlemények:

1. **Dér Henrietta**, Kerekes György, Veres Katalin, Szomják Edit, Soltész Pál.
Arteria brachialis flow-mediált vasodilatáció, carotis intima-média vastagság és augmentációs index (Aix) összehasonlító vizsgálata.
Érbetegségek 2006, 3: 79-86.

2. **Henrietta Der**, Gyorgy Kerekes, Katalin Veres, Peter Szodoray, Gabriella Lakos, Judit Toth, Gyula Szegedi, Pal Soltesz.
Impaired endothelial function and increased carotid intima-media thickness in association with elevated von Willebrand antigen level in primary antiphospholipid syndrome.
Lupus 2007, 16 (7): 497-503.
IF: 2, 4

3. **Henrietta Der***, Pal Soltesz*, Katalin Veres, Renata Laczik, Sandor Sipka, Gyula Szegedi, Peter Szodoray.
Immunological features of primary anti-phospholipid syndrome in connection with endothelial dysfunction.
Rheumatology (Oxford) 2008, 47 (11): 1628-34.
IF: 4, 052
* egyenrangú elsőszerzők

4. Pal Soltesz, **Henrietta Dér**, Gyorgy Kerekes, Peter Szodoray, Gabriella Szucs, Katalin Danko, Yehuda Shoenfeld, Gyula Szegedi, Zoltan Szekanecz.
A comparative study of arterial stiffness, flow-mediated vasodilation of the brachial artery, and the thickness of the carotid artery intima-media in patients with systemic autoimmune diseases. Clin Rheumatol. 2009, 28 (6): 655-62.
IF: 1, 459

Az értekezésben fel nem használt közlemények jegyzéke:

1. Veres K., Szomják E., Kerekes Gy., **Dér H.**, Szerdahelyi Sz., Tumpek J., Soltész P.
Foszfolipid ellenes antitestek alsó végtagi perifériás érbetegekben.
Érbetegségek 2006, 1: 21-26.

2. Szomják Edit, **Dér Henrietta**, Veres Katalin, Kerekes György, Tóth Judit, Ifj. Péter Mózses, Bakó Gyula, Soltész Pál.
Perifériás érbetegeink klinikai adatainak elemzése, különös tekintettel a kor- és nembeli sajátosságokra, valamint az intervenciós radiológiai beavatkozások késői eredményeire Magyar Belorvosi Archívum 2006, 59: 260-266.

3. P. Szodoray, O.Timar, **H. Der**, E: Szomjak, G. Lakos, M. Aleksza, B. Nakken, G. Szegedi, P. Soltesz.
Th1/Th2 Imbalance, Measured by Circulating and Intracytoplasmic Inflammatory cytokines – Immunological Alterations in Acute Coronary Syndrome and Stable Coronary artery Disease
Scandinavian Journal of Immunology 2006, 64: 336-344.
IF: 1,912

4. Emese Kiss M.D., Ph.D., Pal Soltesz M.D., Ph.D., **Henrietta Der M.D.**, Zsolt Kocsis M.D., Tunde Tarr M.D., Harjit Bhattoa M.D., Ph.D., Yehuda Shoenfeld M.D., FRCP and Gyula Szegedi M.D., D.Sc.
Reduced flow-mediated vasodilation is a good marker of cardiovascular complications in lupus patients
Autoimmun. 2006, 27: 211-7.
IF: 2,491

5. Soltész Pál, Prohászka Zoltán, Füst György, **Dér Henrietta**, Kerekes György, Szodoray Péter, Zeher Margit, és Szekanecz Zoltán
Vasculopathiák autoimmun vonatkozásai.
Orv. Hetilap 2007, 148: 53-57.

6. Gabriella Szűcs, Orsolya Tímár, Zoltán Szekanecz, **Henriett Dér**, György Kerekes, Szilvia Szamosi, Yehuda Shoenfeld, Gyula Szegedi, Pál Soltész.
Endothelial dysfunction precedes atherosclerosis in systemic sclerosis: relevance for prevention of vascular complications
Rheumatology (Oxford) 2007, 46 (5): 759-62.
IF: 4, 22
7. Szekanecz Z, Kerekes G, **Dér H**, Sándor Z, Szabó Z, Végvári A, Simkovics E, Soós L, Szentpétery A, Besenyei T, Szűcs G, Szántó S, Tamási L, Szegedi G, Shoenfeld Y, Soltész P.
Accelerated atherosclerosis in rheumatoid arthritis.
Ann N Y Acad Sci. 2007, 1108: 349-58. Review.
IF: 1, 93
8. Pal Soltesz MD PhD, Katalin Veres MD PhD, Renata Laczik, **Henrietta Der** MD, Istvan Csipo PhD, Judit Tumpek MD, Orsolya Timar MD, Edit Szomjak MD, Gyula Szegedi MD, PhD and Peter Szodoray MD PhD
Evaluation of antibodies to oxidized low-density lipoprotein, β 2-glycoprotein I and assessment of C-reactive protein in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease.
Thromb Haemost. 2007, 98: 413-9.
IF: 2, 80
9. Soltész P, Veres K, Szomják E, Kerekes G, **Dér H**, Sándor Z, Dezsó B, Dévényi K, Szekanecz Z.
Catastrophic antiphospholipid syndrome (Asherson's syndrome) associated with cytokeratin 7-positive endometrial cancer.
Isr Med Assoc J. 2007, 9: 891-3.
IF: 0, 51
10. Kerekes G, Szekanecz Z, **Dér H**, Sándor Z, Lakos G, Muszbek L, Csipő I, Sipka S, Seres I, Paragh G, Kappelmayer J, Szomják E, Veres K, Szegedi G, Shoenfeld Y, Soltész P.

Endothelial dysfunction and atherosclerosis in rheumatoid arthritis: a multiparametric analysis using imaging techniques and laboratory markers of inflammation and autoimmunity.

J Rheumatol. 2008, 35: 398-406.

IF: 2, 94

11. Orsolya Tímár, Zoltán Szekanecz, **Henriett Dér**, György Kerekes, Szilvia Szamosi, Yehuda Shoenfeld, Gyula Szegedi, Pál Soltész, Gabriella Szűcs.

Increased arterial stiffness as the marker of vascular involvement in systemic sclerosis

J Rheumatol. 2008, 35: 1329-1333.

IF: 2, 94

12. Szomják Edit, **Dér Henrietta**, Kerekes György, Veres Katalin, Dezső Balázs, Takács István, Tóth Judit, Péter Mózses, Soltész Pál.

Megoldatlan terápia - komplex kezelés Buerger-kór esetén

LAM 2008 18 (6/7): 493-497.

13. Szomják Edit, **Dér Henrietta**, Kerekes György, Veres Katalin, Tóth Judit, Olvasztó Sándor, Herczku Csaba, Soltész Pál.

Multiplex obliteratív érbetegség – kihívás a diagnosztikában és a kezelésben

Orv. Hetil. 2008, 45: 2135-2140.

14. György Kerekes, Pál Soltész, **Henriett Dér**, Katalin Veres, Zoltán Szabó, Anikó Végvári, Yehuda Shoenfeld, Zoltán Szekanecz.

Effects of rituximab treatment on endothelial dysfunction, carotid atherosclerosis and lipid profile in rheumatoid arthritis.

Clin Rheumatol. 2009, 28: 705-10.

IF: 1, 958

15. Szomjak E, **Der H**, Kerekes G, Veres K, Csiba L, Toth J, Peter M, Soltesz P, Szodoray P.

Immunological parameters, including CXCL8 (IL-8) characterize cerebro- and cardiovascular events in patients with peripheral artery diseases.

Scand J Immunol. 2010, 71: 283-91.

IF: 1, 912

16. Soltesz P, Bereczki D, Szodoray P, Magyar MT, **Der H**, Csipo I, Hajas A, Paragh G, Szegedi G, Bodolay E.

Endothelial cell markers reflecting endothelial cell dysfunction in patients with mixed connective tissue disease.

Arthritis Res Ther. 2010, 2: R78.

IF: 4, 49

Tárgyszavak

- 1, antifosfolipid szindróma
- 2, flow-mediált vasodilatáció
- 3, endothel diszfunkció
- 4, artéria carotis intima-média falvastagság
- 5, stiffness paraméterek
- 6, augmentációs index
- 7, pulzushullám terjedési sebesség
- 8, antifosfolipid antitestek

- 1, antiphospholipid syndrome
- 2, flow-mediated vasodilation
- 3, endothelial dysfunction
- 4, carotid artery intima-media thickness
- 5, stiffness parameters
- 6, augmentation index
- 7, pulse wave velocity
- 8, antiphospholipid antibodies

Köszönetnyilvánítás

Szeretném köszönetemet kifejezni mindazoknak, akik lehetővé tették és segítettek egyetemi doktori értekezésem létrejöttét.

Mindenekelőtt köszönöm Dr. Soltész Pál Tanár Úrnak, hogy témavezetőmként folyamatos segítségével és ösztönzésével hozzásegített értekezésem elkészítéséhez.

Klinikánk jelenlegi igazgatójának Dr. Zeher Margit Professzor Nőnek, hogy lehetőséget adott PhD munkám elkészítéséhez.

Dr. Szegedi Gyula Professzor Úrnak azért, hogy végzésem után munkámat figyelemmel követte, és segíti.

Külön köszönetet szeretnék mondani Dr. Szomják Edit Adjunktus Nőnek, aki nemcsak az általános belgyógyászat elsajátításában volt segítségemre, hanem orvostanhallgató korom óta mindig támogatott, állandóan ösztönzött többek között értekezésem létrejöttében.

Köszönetet mondok társszerzőimnek, angiológiai munkacsoportunk további tagjainak Dr. Veres Katalinnak, Dr. Kerekes Györgynek, Dr. Tímár Orsolyának és Dr. Laczik Renátának, valamint külön köszönetemet szeretném kifejezni Szekanecz Zoltán Professzor Úrnak, és Dr. Szodoray Péternek a közlemények összeállításában nyújtott segítségért.

Hálásan köszönöm az Immunológiai Laboratórium vezetőjének és dolgozóinak: Dr. Sipka Sándor Professzor Úrnak, Dr. Lakos Gabriellának, Dr. Csípő Istvánnak, Dr. Gyimesi Editnek, Dr. Alexa Magdolnának, Szöllősi Lászlóné Ibolyának és Kovács Ildikónak az immunológiai experimentális munkában nyújtott segítségüket.

Köszönettel tartozom a III. sz. Belklinika dolgozóinak. A PhD munkám klinikai részét a Klinika Intenzív Osztályán végeztem, ezúton mondok köszönetet az Intenzív Osztály orvosainak, nővéreinek. Külön köszönöm Pappné Farkas Ildikónak az angiológiai mérésekben nyújtott szakasszisztensi segítségét.

Hodosi Katalinnak és Szabó Juditnak állandó segítségéért, mellyel cikkeim és értekezésem formai kivitelezéséhez hozzájárult.

Családomnak türelmükért, segítségükért.