

**EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS**

**A FXIII AKTIVITÁSA, ANTIGÉN SZINTJE ÉS A FXIII-A VAL34LEU  
POLIMORFIZMUSA CORONARIA BETEGSÉGBEN**

**Dr. Bereczky Zsuzsanna**

**Témavezető: Prof. Muszbek László**

**Programvezető: Prof. Muszbek László**

**DEBRECENI EGYETEM  
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM  
KLINIKAI KUTATÓ KÖZPONT  
DEBRECEN, 2007**

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS</b>	<b>2. oldal</b>
<b>BETEGEK, ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK</b>	<b>8. oldal</b>
Betegek és kontroll személyek	8. oldal
Laboratóriumi módszerek	9. oldal
Statistikai módszerek	12. oldal
<b>EREDMÉNYEK</b>	<b>13. oldal</b>
A különböző betegcsoportok főbb jellemzői	13. oldal
A populációs kontroll csoport jellemzői	16. oldal
A FXIII-A Val34Leu polimorfizmus gyakoriságának meghatározása a magyar általános populációban és a különböző betegcsoportokban, a Leu34 allél jelenlétének CS és MI kialakulásának kockázatára gyakorolt hatása, a kockázatra gyakorolt hatás vizsgálata a fibrinogén szint függvényében	16. oldal
A FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa és a coronaria sclerosis/myocardialis infarctus közötti összefüggés ellentmondó eredményeinek összefoglaló elemzése meta-analízissel	18. oldal
A FXIII szintek összefüggése a coronaria sclerosissal/myocardialis infarctussal, a nemek közötti különbségek vizsgálata	26. oldal
A coronaria sclerosis/myocardialis infarctus hatása a plazma FXIII szintekre a FXIII-A Val34Leu polimorfizmus különböző genotípusaiban	31. oldal
<b>MEGBESZÉLÉS</b>	<b>33. oldal</b>
<b>ÖSSZEFOGLALÁS</b>	<b>39. oldal</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>40. oldal</b>
<b>IRODALOMJEGYZÉK</b>	<b>41. oldal</b>
<b>AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK ÉS KÖNYVFEJEZET</b>	<b>47. oldal</b>
<b>AZ ÉRTEKEZÉSHEZ NEM SZOROSAN KAPCSOLÓDÓ NEMZETKÖZI ÉS HAZAI FOLYÓIRATBAN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK</b>	<b>48. oldal</b>
<b>TÁRGYSZAVAK</b>	<b>51. oldal</b>
<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</b>	<b>52. oldal</b>
<b>FÜGGELÉK</b>	
Rövidítések jegyzéke és a vonatkozó közlemények másolatai	<b>53. oldal</b>

## BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A véralvadás XIII-as faktora (FXIII) egy tetramer struktúrájú ( $A_2B_2$ ) protranszglutamináz. A tetramer két potenciálisan aktív "A" alegységet (FXIII-A) és két gátló illetve hordozó "B" alegységet (FXIII-B) tartalmaz. A FXIII-A csontvelői eredetű, míg a FXIII-B-t a hepatocyták termelik, a két alegység a plazmában alkot komplexet. A plazmában a FXIII-A kizárólag a komplexben fordul elő, míg a FXIII-B a komplexen kívül, szabadon is megtalálható, ez a teljes mennyiségének kb. 50%-a. A FXIII komplex (továbbiakban FXIII) átlagos plazma koncentrációja 21 mg/L. A celluláris forma FXIII-B-t nem tartalmaz, a sejtekben (thrombocyta, monocyta és macrophag) csak mint  $A_2$  dimer fordul elő. A FXIII-A proteint egy aktivációs peptid (1-37 aminosavak), egy  $\beta$ -szendvics (38-184 aminosavak), a katalitikus, ún. "core" domén (185-515 aminosavak) és két hordó domén (516-628 és 629-730 aminosavak) építik fel. A FXIII-A génje a 6p24-25 régióban helyezkedik el, 15 exonból és 14 intronból áll. Az aktivációs peptidet a II. exon kódolja. A FXIII-B mozaik fehérje, 10 "szusi" domén építi fel, melyekben egyenként két-két diszulfid híd biztosítja a megfelelő struktúra kialakulását. A FXIII-B génje az 1q31-32 régióban található (1,2).

A FXIII  $Ca^{2+}$  jelenlétében, a trombin proteolitikus hatására alakul aktív transzglutaminázzá (FXIIIa). A trombin lehasítja a 37 aminosavból álló aktivációs peptidet a FXIII-A-ról, majd  $Ca^{2+}$  jelenlétében a FXIII-B disszociál, és kialakul az enzimatikusan aktív FXIII-A\*. Fibrin jelenlétében ez a folyamat jelentősen felgyorsul. Az aktív transzglutamináz acil-transzfer reakciót katalizál. Első lépésként egy peptid kötésben lévő glutamin reziduum tioacil intermediert alkot a FXIIIa aktív centrumában elhelyezkedő Cys314-gyel, miközben ammónia szabadul fel. Amennyiben primer amin szubsztrát nincsen jelen, a tioacil intermedier hidrolizál és a peptid-kötött glutamin deamidálódik. Primer amin szubsztrát jelenlétében az acil csoport a primer amin szubsztrátra helyeződik át és az amin izopeptid kötéssel a glutamil oldallánchoz kapcsolódik. Amennyiben a szubsztrát amin egy peptid kötésben lévő lizin  $\epsilon$ -aminocsoportja,  $\epsilon(\gamma\text{-glutamil})\text{lizil}$  képződik és a peptid láncok kovalens kötéssel összekapcsolódnak (3). A FXIII a koaguláció utolsó fázisában játszik fontos szerepet, fő funkciója a normál hemosztázisban a képződő fibrin láncok kovalens keresztbe kötése, valamint a fibrinolízis szabályozásában részt vevő proteinek fibrin háléhoz történő kapcsolása. A fibrinháló FXIIIa által történő

keresztkötése növeli annak mechanikai stabilitását, valamint ellenállóbbá teszi a fibrinolízissel szemben. A FXIIIa a fibrin  $\gamma$ - és  $\alpha$ -láncait köti keresztbe, így a keletkezett termékek  $\gamma$ -lánc dimerek és nagy molekulatömegű  $\alpha$ -lánc polimerek. A  $\gamma$ -lánc dimerek kialakulása igen gyors folyamat, kis mennyiségű FXIIIa-t igényel és gyakorlatilag a fibrinopeptid A fibrinogénről történő lehasadása után azonnal elkezdődik. Az  $\alpha$ -láncok többszörös keresztkötése számos acil donor és acil akceptor között jóval lassabb folyamat. A  $\gamma$ -lánc dimerek és  $\alpha$ -lánc polimerek mellett jóval kisebb mennyiségben, de keletkeznek  $\gamma$ - $\alpha$  lánc heterodimerek és  $\gamma$ -lánc trimerek/tetramerek is. Tekintettel arra, hogy az  $\alpha_2$ -plazmin inhibitor kiváló acil donor szubsztrát, a FXIIIa képes keresztkötéssel a fibrin, vagy fibrinogén  $\alpha$ -láncához kapcsolni. Mind a fibrin keresztkötésnek, mind az  $\alpha_2$ -plazmin inhibitor fibrinhez történő kötésének fontos szerepe van a fibrinolízis elleni védelemben. Amennyiben a FXIIIa aktivitását gátoljuk, a fibrinháló plazmin általi degradációja jelentősen fokozódik. Az  $\alpha_2$ -plazmin inhibitor fibrinhez kapcsolódása már a fibrin képződés korai időszakában megtörténik, ezáltal védve az újonnan képződött fibrint a degradációtól, míg az érett thrombus fibrinolízissel szemben tanúsított rezisztenciájáért inkább a fibrin  $\alpha$ -lánc keresztkötések felelősek. Az  $\alpha_2$ -plazmin inhibitor mellett a FXIIIa egyéb, a fibrinolitikus rendszerhez tartozó fehérjét is képes a fibrinhez kötni. A plazminogén és a trombin aktiválta fibrinolízis inhibitor (TAFI) fibrinhez történő kapcsolódásának fiziológias szerepe egyelőre nem ismert. A 2-es típusú plazminogén aktivátor inhibitor (PAI-2) fibrinhez történő kapcsolódás után is megőrzi aktivitását. A terhességtől eltekintve ez a fehérje nem található meg a plazmában, de az alvadékba inkorporálódott monocyták szekretálhatják. A PAI-2 fibrinhez való kapcsolódása feltehetően az urokináz típusú plazminogén aktivátor elleni védelemben játszik szerepet (4,5).

A FXIII-A génje meglehetősen polimorf, a kódoló régióban 5 gyakori polimorfizmust írtak le. Ezek közül a Val34Leu polimorfizmus a legkiterjedtebben tanulmányozott, ugyanis thrombo-protéktív hatását feltételezték (lásd később) (6). A polimorfizmus a 2. exonban található, a fehérjében az aktivációs peptidben van, mindössze 3 aminosav távolságra a trombin hasítási helytől. A Leu allél frekvenciája a kaukázusi populációban meglehetősen szűk tartományban változik (24,5-28,8%), a magyar általános populáció vizsgálata egy viszonylag kisebb számú csoport intézetünkben történt vizsgálatától eltekintve korábban nem történt meg (7-16). A

polimorfizmus biokémiai következményeit számos tanulmány vizsgálta. Mivel a mutáció helye igen közel van a trombin hasítási helyhez, ezért feltételezhető volt, hogy a FXIII trombin általi aktivációját befolyásolja. A Leu34 variáns esetében az aktivációs peptid felszabadulása 2,5-szer gyorsabban történik mint a Val34 variáns esetében és ez a hatás független a fibrinogén szinttől, bár ismert, hogy a fibrinogén maga is fokozza a katalitikus hatékonyságot (7,17). A gyorsabb aktiválódás következtében a Leu34 variáns gyorsabb fibrin  $\gamma$ -és  $\alpha$ -lánc keresztkötéseket és gyorsabb  $\alpha_2$ -plazmin inhibitor-fibrin kötést eredményez. Ezek mellett azt is kimutatták, hogy a Val34Leu polimorfizmus befolyásolja a kialakult fibrin struktúráját. A Leu34 variáns által keresztkötött fibrin finomabb szerkezetű, vékonyabb rostokból és kisebb pórusokból áll, mint a Val34 által keresztkötött. Bár a trombin által történő aktiválódás az egyes genotípusok esetén különbségeket mutat, adekvát módszert (lásd később) és megfelelő inkubációs időt alkalmazva az egyes genotípusok transzglutamináz aktivitása normál egyénekben nem különbözik (7,18).

A FXIII aktivitás, FXIII antigén koncentráció és a coronaria sclerosis (CS)/myocardialis infarctus (MI) összefüggéséről az elmúlt időszakban több közlés született. Az eredmények értékelését azonban jelentősen megnehezíti az, hogy a FXIII aktivitásának meghatározására alkalmazott módszerek meglehetősen heterogének és nem minden esetben ugyanazt a tulajdonságát mérik a FXIII-nak. Ezért a korábbi tanulmányok eredményeinek ismertetése előtt szükséges a FXIII aktivitás/antigén meghatározására szolgáló módszerek rövid átteintése. Legkorábban a fibrin alvadék koncentrált ureában, vagy monoklór ecetsavban történő oldékonyságát vizsgálva vontak le következtetéseket a FXIII aktivitására vonatkozóan. Ez a módszer azonban nem standardizált, nem ad kvantitatív eredményt és csak az igen súlyos (1% alatti) FXIII deficienciát ismeri fel. Ez a módszer ma már szűrő módszerként sem ajánlható. A ma alkalmazott funkcionális tesztek közös tulajdonsága, hogy a FXIII-t trombinnal és  $\text{Ca}^{2+}$ -mal aktiválják, majd a FXIIIa transzglutamináz aktivitását kvantitatívan meghatározzák. A transzglutamináz aktivitás meghatározása alapvetően két módszerrel történhet: 1. a transzglutamináz reakció első lépésében felszabaduló ammónia detektálásával, vagy 2. protein szubsztráthoz keresztkötött kis molekula tömegű aminok vizsgálatával (5).

1. Az ammónia detektálását ma egy NADP(H) dependens glutamát dehidrogenáz (GLDH) indikátor reakcióval végzik. Saját laboratóriumunkban

kifejlesztett kinetikus spektrofotometriás módszerben egy NADPH molekula NADP-vé alakulása felel meg egy molekula ammónia felszabadulásának, így az ammónia felszabadulás folyamatosan monitorozható 340 nm-en (19). Az alvadást (fibrin polimerizációt) a tesztben egy gátló tetrapeptid alkalmazásával akadályozzuk meg. Amin szubsztrátként glicin etilésztert alkalmazunk, glutamin donor szubsztrátként az  $\alpha_2$ -plazmin inhibitor N-terminális szekvenciájának megfelelő szintetikus 12 tagú peptidet alkalmazunk. A plazma vak reakció bevezetése a korábban – különösen alacsony tartományban – észlelt szisztémás fölélmérést akadályozza meg. A módszer másik nagy előnye, hogy magas trombin koncentrációt alkalmaz a FXIII aktiválására, ezért elegendő a plazmában lévő FXIII teljes mértékű aktivációjára alacsony koncentrációjú, vagy kóros fibrinogén esetén is. Nagyon lényeges tulajdonsága a tesztnek, hogy a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa nem befolyásolja az eredményeket. Az ammónia felszabadulás detektálásán alapuló tesztek előnyei, hogy valódi kinetikus enzimatikus módszerek, egylépéses, gyors tesztek, könnyen automatizálhatók, megfelelően megállapított referencia tartomány rendelkezésre áll.

2. Az amin inkorporáción alapuló módszerek esetén fluoreszcensen jelölt (danzil-kadaverin), radioizotóppal jelzett ( $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ) putreszcin, hisztamin, vagy glicin-etilészter, dinitro-fenil kadaverin, illetve biotinált kadaverin szolgál amin szubsztrátként, mely a FXIIIa által kovalensen hozzákapcsolódik egy fehérje acil donor glutamin oldalláncához. A nem kötődött jelzett amin eltávolítják, a fehérjéhez kapcsolódott frakciót kvantitatívan meghatározzák. Az amin inkorporációs tesztek közös előnye a magas szenzitivitás, hátrányuk az időigényesség. Amennyiben a fehérje szubsztrát mikrotitráló lemez felületéhez van kötve, a nem kötődött frakció eltávolítása könnyebb, így a teszt gyorsabb (mikrotiter lemez módszer). Utóbbi módszerek közös hibája, hogy a lemez felületéhez kötött protein szubsztrát koncentrációja általában szuboptimális, ezért a reakció nem követi a nulladrendű kinetikát, így a mért enzimaktivitás nem lineáris az enzim katalitikus koncentrációjával (5). Az általánosan alkalmazott mikrotiter lemez módszer fent említett hibája mellett ebben a tesztben nagyon alacsony trombin koncentrációt (1 U/mL) alkalmaznak a FXIII aktiválására, ezért a plazmában lévő FXIII csak részlegesen aktiválódik. A FXIII trombin által történő aktiválódásának mértéke függ a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusától (20, 21). A Leu34 variáns FXIII szignifikánsan gyorsabban aktiválódik a vad típusú fehérjéhez viszonyítva, a heterozigóták FXIII

aktivációjának sebessége a kettő közé esik. 1 U/mL trombin koncentrációnál ezért a FXIII trombin által aktivált mennyisége erősen függ a Val34Leu genotípustól, a trombin koncentrációt növelve ez a különbség eltűnik. Bár a FXIII specifikus aktivitása és a katalitikus hatékonysága a különböző Val34Leu genotípusok esetén azonos, elégtelen trombin aktiváció következtében ugyanazon mennyiségű Val/Val, Val/Leu, Leu/Leu FXIII különböző transzglutamináz aktivitás értéket mutat, ami Val/Val FXIII esetében alá-, Leu/Leu FXIII esetében fölé mérést eredményez. Emiatt, genetikai analízis hiányában egy adott FXIII aktivitást ezzel a teszttel nem értékelhetünk, ugyanis nem megítélhető, hogy pl. a FXIII aktivitás emelkedése valós, vagy csak a Leu/Leu FXIII jelenléte által okozott fölé mérésről van szó (7, 17, 18, 22).

A FXIII koncentrációjának meghatározására ELISA módszereket alkalmaznak. A plazma FXIII komplex (FXIII A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>) és az egyes alegységek elkülönítve is mérhetők. Elsődleges tesztként a FXIII A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> meghatározása ajánlott. A FXIII A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> meghatározására intézetünkben egy egy-lépéses szendvics ELISA kidolgozása történt meg, biotinált anti-FXIII-B és peroxidázzal jelzett anti-FXIII-A monoklonális antitestekkel, streptavidinnel fedett mikrolemezekon a teszt gyorsan kivitelezhető. A szabad FXIII alegységek és a fibrinogén nem interferálnak a meghatározással. Az ELISA-val kapott eredmények – kivéve azt a rendkívül ritka esetet, amikor kóros, nem aktiválható FXIII-A szintetizálódik - jól korrelálnak a kinetikus spektrofotometriás aktivitás méréssel kapott értékekkel (23).

A plazma FXIII aktivitásának és antigén koncentrációjának a CS/MI-sal mutatott összefüggését vizsgáló néhány tanulmány általában a fent említett mikrolemes módszert alkalmazta, ezért eredményeiket erősen befolyásolhatta a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa, mindemellett az eredmények meglehetősen ellentmondóak. Az ellentmondás feloldására szükséges a CS/MI és a plazma FXIII szintek összefüggésének vizsgálata olyan funkcionális teszt alkalmazásával, ahol a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusából eredő eltérő sebességű FXIII aktiváció nem befolyásolja a mért transzglutamináz aktivitást, valamint annak feltárása, hogy a különböző genotípusok FXIII szintekre gyakorolt befolyásoló hatása adekvát módszer alkalmazása mellett észlelhető-e a coronaria betegek esetén.

A coronaria betegség súlyos népegészségügyi probléma mind férfiak, mind nők esetében. A betegség jelentkezése, a klinikai tünetek, és a terápiára adott válaszban különbségek mutatkoznak a két nem között (24-27). Az atheroscleroticus plaque rupturája, ill. eróziója a koaguláció és a thrombocyták aktivációjához vezet,

melynek következtében az akut ischaemiás események közvetlen kiváltó tényezője az intracoronariás thrombus kialakulása. Bár az alvadási tényezők szerepe a coronaria betegségekben még nem teljesen feltárt, feltételezhető, hogy a protromboticus állapotok (emelkedett alvadási faktor szintek) és a fibrinolízis zavara emelheti a MI kockázatát. A "klasszikus" kockázati tényezők mellett ezért az utóbbi időben néhány hemosztazeológiai tényező szerepe is felmerült. Ezek közül legszélesebb körben a fibrinogént és a plazminogén aktivátor inhibitor (PAI-1) vizsgálták. Amellett, hogy rizikó faktor szerepüket megerősítették, jelentős nemek közötti különbségeket is észleltek e két tényező vonatkozásában. A nők fibrinogén szintje általában magasabb a férfiakénál és a fibrinogén szint magas vérnyomással mutatott pozitív korrelációja csak nőkben volt igazolható (28). A Framingham tanulmányban a CS és a fibrinogén csak diabetes mellitusban szenvedő nők esetén mutatott szignifikáns összefüggést (29). A coronaria betegségben szenvedő nők PAI-1 szintjét szignifikánsan emelkedettebbnek észlelték a férfiakéhoz viszonyítva (30). Mivel a FXIII szoros kapcsolatban van a fibrinogénnel, illetve a fibrinolízis szabályozásában is részt vesz, ezért feltételezhető a szerepe a CS/MI kialakulásában, és a fent említett tanulmányok alapján felmerül a nemek közötti különbségek lehetősége is.

A FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa és a MI összefüggését számos tanulmány vizsgálta, az eredmények azonban meglehetősen ellentmondóak. Az első közlések szerint a Leu34 allél jelenléte protektív hatású a myocardialis infarctussal szemben (8,9,31-35). Később olyan tanulmányok is megjelentek, melyek ezt a protektív hatást nem igazolták (11,36-40). Ezen ellentmondás hátterében feltehetően gén-gén, gén-környezet interakciók állnak. Kimutatták, hogy a fibrinogén koncentráció emelkedésével párhuzamosan bekövetkező fibrin alvadék permeabilitás változás a Leu34 allélek növekvő száma szerint csökkenő mértékű (41,42). Ezek alapján felmerül annak a lehetősége, hogy a Leu34 allél protektív hatása csak emelkedett fibrinogén koncentráció esetén érvényesül. Ezt a hipotézist eddig még nem ellenőrizték coronaria betegekben. A Leu34 allél protektív hatásával kapcsolatos ellentmondó eredmények miatt egy az eddig közölt adatok alapján végzett meta-analízis is szükséges.



## **CÉLKITŰZÉSEK**

1. A FXIII-A Val34Leu polimorfizmus vizsgálata a magyar általános populációban és cardiovascularis betegekben, a Leu34 allél frekvenciájának meghatározása a magyar általános populációban. A FXIII-A Leu34 allél CS/MI-vel szemben kifejtett protektív hatásának vizsgálata a fibrinogén szint függvényében.
2. A saját eredmények és az eddig megjelent közlések adatai alapján meta-analízis végzése a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa és a coronaria sclerosis/myocardialis infarctus összefüggésével kapcsolatos eddigi ellentmondó eredmények összefoglaló értékelésére.
3. A FXIII aktivitásának és antigén koncentrációjának adekvát módszerrel történő meghatározásával annak feltérképezése, hogy van-e összefüggés a FXIII szintek és a CS/MI között, jelent-e fokozott kockázatot az emelkedett FXIII aktivitás/antigén ezekre a betegségekre nézve, van-e a nemek között különbség ebben a tekintetben.
4. A FXIII aktivitásának és antigén koncentrációjának adekvát módszerrel történő meghatározása esetén annak megállapítása, hogy coronaria sclerosiban/myocardialis infarctusban befolyásolja-e a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa a plazma FXIII szinteket.

## **BETEGEK, ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

### *Betegek és kontroll személyek:*

A tanulmányba a Debreceni Egyetem, Orvos-és Egészségtudományi Centrum Kardiológiai Intézetébe coronaria betegség gyanújával 18 hónap alatt felvett 1010 beteget vontunk be. A CS jelenlétének, kiterjedésének és súlyosságának megítélése coronarographiás vizsgálattal történt. Amennyiben egy vagy több coronaria ágban a stenosis elérte, vagy meghaladta az 50%-ot (szignifikáns stenosis), a betegeket CS-ben szenvedőnek tekintettük (CS+). Amennyiben a stenosis mértéke nem érte el az 50%-ot, úgy a coronarographiás eredményt negatívnak tekintettük (CS-). Az acut MI

diagnózisát (MI+) annak jelentkezésekor az American College of Cardiology (ACC) és a European Society of Cardiology (ESC) kritériumai alapján állították fel. A későbbiekben részletezett laboratóriumi vizsgálatokra a mintavétel az infarctust követően három hónappal, vagy később került sor. Az eredmények feldolgozásakor 55 személyt a diagnózis bizonytalansága, vagy hiányzó laboratóriumi eredmények miatt kizártunk. Azokat a személyeket, akik nem rendelkeztek szignifikáns coronaria stenosisal és az anamnesisben MI sem volt explorálható, klinikai kontroll személyeknek tekintettük (CS-MI-). A többi vizsgált személyt különböző alcsoportokba osztottuk a szignifikáns coronaria stenosis és MI megléte alapján, kialakítva a következő betegcsoportokat: CS-MI+, CS+MI- és CS+MI+. A vizsgálatba bevont személyek esetében a CS és MI tényének igazolásán túlmenően regisztráltuk a diabetes mellitus, hypertonia jelenlétét, valamint a dohányzási szokásokat. A napi 10 szál cigarettát, vagy annál többet fogyasztókat tekintettük folyamatos dohányzóknak. A tanulmány a Debreceni Egyetem Etikai Bizottságának engedélyével történt.

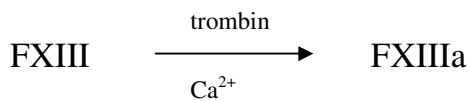
A magyarországi általános populáció genetikai vizsgálatához a vérmintákat a DEOEC Megelőző Orvostani Intézet/Népegészségügyi Iskola által koordinált Háziiorvosi Morbiditás Adatgyűjtés Program keretében gyűjtöttük. Magyarország négy megyéjének 22 különböző háziiorvosi praxisából randomszerűen kiválogatott 1146 személy genetikai vizsgálatát végeztük el.

#### *Laboratóriumi módszerek:*

A vérvétel éhgyomorrra történt. A kémiai, immunkémiai paraméterek vizsgálatát natív szérumból végeztük a mintavétel napján. A homocisztein szintet EDTA-val alvadásgátolt vérből két órán belül szeparált plazmából végeztük, melyet a feldolgozásig  $-20^{\circ}\text{C}$ -on tároltunk. A fibrinogén szintet, a FXIII aktivitás és antigén szintjét Na-citráttal alvadásgátolt vérből szeparált plazmából végeztük, a mintákat feldolgozásig szintén  $-20^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A szérum összkoleszterin, LDL-koleszterin, HDL-koleszterin, triglicerid, apoA1, apoB és lipoprotein(a) (Lp(a)) meghatározása rutin klinikai kémiai módszerekkel történt Roche Integra 700 klinikai kémiai analizátoron (Roche, Mannheim, Németország). A C-reaktív protein (CRP) meghatározása Roche Integra 400 klinikai kémiai analizátoron történt. A plazma

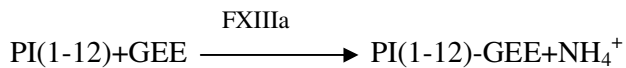
fibrinogén szintet módosított Clauss módszerrel STA Compact koagulométerrel határoztuk meg (Diagnostica Stago, Asnieres, Franciaország) Reanal Fibrinogén kit alkalmazásával (Reanal-Ker Kft., Budapest, Magyarország). A plazma homocisztein koncentrációját fluoreszcens polarizációs immunassay-ben Abbott AxSYM immunkémiai analizátoron határoztuk meg (Abbott, Abbott Park, IL, USA). A plazma FXIII aktivitásának meghatározása intézetünkben kifejlesztésre került módosított optimalizált kinetikus spektrofotometriás módszerrel történt (REA-chrom FXIII kit, Reanal-Ker Kft.) (19). Röviden ismertetve, a módszer az ammónia felszabadulás detektálásán alapul és a következő három reakciót foglalja magában:

1. A FXIII aktivációja trombinnal és  $\text{Ca}^{2+}$ -mal:

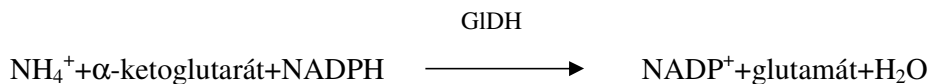


A reakció során trombin hatására keletkező fibrin polimerizációját egy tetrapeptiddel (GPRP) gátoljuk.

2. Transzglutamináz reakció, melyben a FXIIIa a glicin-etiésztert (GEE), mint amin szubsztátot egy, az  $\alpha_2$ -plazmin inhibitor N-terminális 12 aminosavának megfelelő szintetikus 12 tagú peptid (PI(1-12)) glutamin oldalláncához kapcsolja, miközben ammónia szabadul fel:



3. Indikátor reakció, melyben a felszabadult ammónia mennyiségét egy glutamát-dehidrogenáz (GIDH) enzim által katalizált, NADPH-függő reakcióban detektáljuk:



A NADPH fogyást (abszorbancia csökkenést) 340 nm-en spektrofotométerrel jól követhetjük. A reakció ötödik és tizedik perce között az abszorbancia csökkenés mértéke egyenesen arányos a FXIII aktivitással. A reakció 5 perces lag fázisa alatt lebomlik a plazma és a reagens esetleges belső ammónia tartalma, valamint bekövetkezik a FXIII teljes aktivációja. A meghatározásnál a reagens vak mellett minta vakot is alkalmazunk, melyben a FXIIIa aktivitást 1 mmol/L jódcetamiddel gátoljuk. Az ún. vak reakcióban mért abszorbancia változást levonjuk a jódcetamid

nélkül mért abszorbancia változásból, s a kettő különbségéből számoljuk a FXIII aktivitást a következőképpen:

A WHO, mint elsődleges standard plazma preparátum alapján meghatározott ismert FXIII aktivitású kalibráló plazma (FXIII<sub>cal</sub>) abszorbancia változás értékeiből egy faktort (F) kalkulálva, megadhatjuk az ismeretlen minta FXIII aktivitását.

$$F = \frac{\text{FXIII}_{\text{cal}}}{\Delta A_{\text{cal}}/\text{min} - \Delta A_{\text{cal-vak}}/\text{min}}$$

$$\text{FXIII}_{\text{minta}} = F \times (\Delta A_{\text{minta}}/\text{min} - \Delta A_{\text{minta-vak}}/\text{min})$$

A módszer referencia tartománya a normál átlag 69-143%-a.

A módszert Roche Cobas Mira klinikai kémiai automatára, mikrolemez olvasó készülékre (ELISA reader) és Dade-Behring BCS automata koagulométerre adaptáltuk. A méréseket Roche Cobas Mira készüléken végeztük.

A FXIII A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> komplex koncentrációjának meghatározását a szintén intézetünkben kifejlesztett egylépéses szendvics ELISA-val végeztük (R-ELISA, Reanal-Ker Kft.) (23).

A módszer - röviden ismertetve – a FXIII A illetve B alegységeit felismerő egér monoklonális antitestek alkalmazásán alapul. A FXIII-B alegységre specifikus biotinált elfogó antitestet, a FXIII-at tartalmazó hígított plazma mintát és a FXIII-A alegységre specifikus torma peroxidáz enzimmel konjugált jelző antitestet streptavidinnel bevont ELISA lemez vályúiban inkubáljuk. A képződött immunkomplex a biotinon keresztül a streptavidinnel fedett felszínhez kapcsolódik. A nem kötődött komponenseket mosással eltávolítjuk. A kötött peroxidáz aktivitást H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> és tetrametilbenzidin szubsztrát hozzáadásával határozzuk meg. Az enzimatis reakciót 2 mol/L kénsav hozzáadásával állítjuk le, a képződött színes termék színintenzitását ELISA lemez olvasóval (ELISA reader) mérjük. A módszerrel intézetünkben megállapított referencia tartomány 14,0-28,0 mg/L.

A FXIII Val34Leu polimorfizmusának detektálására Na-citráttal alvadásgátolt vérből végzett DNS izolálást (QIAamp DNA Blood Mini Kit, Qiagen, Hilden, Németország) követően valós idejű PCR-t és fluoreszcencia rezonancia energia transzfer (FRET) alapú detektálást, olvadáspont görbe analízist végeztünk Roche LightCycler készüléken intézetünkben kifejlesztett módszer alapján (43). Az oligonukleotid

primereket és hibridizációs próbákat a TIB MOLBIOL cégtől (Berlin, Németország) szereztük be. A mutációt detektáló, a vad típusnak megfelelő bázist tartalmazó oligonukleotid próba (donor) fluoreszcinnel jelzett, míg az akceptor próba LC Red640-nel, egy másik fluorofórral van kapcsolva. A két próba közti távolság hibridizáció esetén mindössze egy nukleotid, így a fluoreszcint gerjesztve, az energia átadás megvalósul és az LC Red640 által kibocsátott fluoreszcenciát detektálhatjuk. A PCR reakció végeztével a genotipizálás az ún. olvadáspont analízis során történik. Az olvadáspont analízis során a gerjesztés és a detektálás folyamatos. A hőmérséklet lassú emelésével a jelölt olidonukleotid-PCR termék hibridek disszociálnak, a fluorofórok eltávolodnak egymástól, csökken ill. megszűnik a FRET, ami az akceptorra jellemző fluoreszcencia intenzitás hőmérséklet függő csökkenését eredményezi. A fluoreszcencia csökkenés mértéke az akceptort hordozó oligonukleotid-PCR termék hibrid olvadáspontja körül a legintenzívebb. Az olvadáspont szekvencia (bázisösszetétel) specifikus, és függ a hibridizálódott két DNS szakasz (szensz ill. antiszensz) komplementaritásának mértékétől (már egy nukleotidnyi inkomplementaritás is jelentősen csökkentheti az olvadáspontot). Így a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa esetében homozigóta mintánál az egy nukleotidnyi inkomplementaritás következtében a vad genotípushoz képest az olvadáspont alacsonyabb hőmérsékleten van, míg heterozigóta genotípus esetén mind a vad mind a mutáns allélnak megfelelő olvadáspont megfigyelhető. Ha a jelenséget FRET technikával követjük, a fluoreszcencia-intenzitás csökkenésének a negatív deriváltját a hőmérséklet függvényében ábrázolva jellemző olvadáspont görbét kapunk. Az egyes görbék csúcsai az adott mintából származó PCR termék-jelzett oligonukleotid hibrid olvadáspontjához tartozó hőmérsékletnek felelnek meg, aminek alapján lehetővé válik a különböző genotípusok elkülönítése.

#### *Statisztikai módszerek:*

A különböző laboratóriumi eredmények eloszlását paraméterenként Kolmogorov-Smirnov teszttel vizsgáltuk. Azon paraméterek esetében, melyek szignifikánsan eltértek a normál (Gaussi) eloszlástól, logaritmikus transzformációval normalizáltuk az eloszlást. Az eredményeket az átlag (95% konfidencia intervallum, CI), a logaritmusosan transzformált paraméterek esetében mértani átlag (anti-log 95% CI) formában fejeztük ki. A folyamatos változók esetében a vizsgált csoportok közötti

különbségeket Student-féle t-tesztel elemeztük. A nem folyamatos változók esetében a különbségeket  $\chi^2$  teszttel értékeltük. A plazma FXIII aktivitás és antigén szint többi paraméterrel történő összefüggésének mértékét Spearman korrelációs koefficiens számításával értékeltük. A FXIII aktivitását, illetve a FXIII antigén szintet függetlenül befolyásoló paramétereket többszörös lineáris regressziós modellben vizsgáltuk. A különböző betegcsoportok és a klinikai kontroll csoport FXIII aktivitás és antigén szintjét ANOVA tesztben (analysis of variance) hasonlítottuk össze. Amennyiben az ANOVA szignifikáns különbségeket jelzett, utólagos páronkénti összehasonlítást is végeztünk LSD (least significant difference) teszt segítségével. Az emelkedett FXIII szintek, valamint a FXIII-A Val34Leu genotípusok CS-ra és MI-ra jelentett kockázatfokozó hatásának vizsgálatát logisztikus regresszióval végeztük, az eredményeket esélyhányadosokkal (Odds ratio; OR) és azok 95% CI-val fejeztük ki. A logisztikus regressziós modellekbe az életkort, nemet, diabetes mellitus meglétét, dohányzást és a különböző laboratóriumi paramétereket beépítve korrigált esélyhányadosokat számoltunk. A FXIII-A Val34Leu polimorfizmus és a plazma FXIII szintek közötti összefüggést ANOVA tesztben elemeztük. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük minden elemzés esetén statisztikailag szignifikánsnak. A fent említett statisztikai elemzéseket a Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 11.5) programmal végeztünk.

A FXIII-A Val34Leu polimorfizmusának meta-analízisét a STATA szoftver "meta" programjával végeztük. A publikációs torzítás (lásd később) vizsgálata a STATA szoftver "metabias" programjával, "funnel plot" analízissel és Egger-féle teszttel történt.

## **EREDMÉNYEK**

### *A különböző betegcsoportok főbb jellemzői:*

A tanulmányba bevont 955 coronarographiával vizsgált személy közül 302 esetben sem szignifikáns CS, sem MI nem volt, ezen személyek képezték a klinikai kontroll csoportot (CS-MI-). 312 betegnél szignifikáns CS-t találtunk, előzetes MI nélkül (CS+MI-). 307 beteg esetében mind CS, mind előzetes MI igazolható volt (CS+MI+), míg 34 betegnél szignifikáns CS hiánya ellenére az anamnézisben bizonyítható MI

szerpelt (CS-MI+). Ez utóbbi betegeknél a CS-t nem okozó plaque ruptura, illetve coronaria spasmus játszhatott fő szerepet az infarctus kialakulásában. A nemek arányát tekintve várható módon a CS+ és/vagy MI+ csoportokban szignifikáns férfi túlsúly volt, míg a klinikai kontrollok között a nők száma valamivel magasabb volt. A CS-MI- csoport átlagéletkora  $55,5 \pm 10,2$  év volt, a CS-MI+ csoport életkora ettől gyakorlatilag nem különbözött ( $55,4 \pm 10,3$  év). A CS-sal rendelkező betegek szintén várható módon szignifikánsan idősebbek voltak (CS+MI-:  $60,8 \pm 10,1$  év,  $p < 0,001$ ; CS+MI+  $58,6 \pm 10,7$  év  $p < 0,001$ ). A diabetes mellitus előfordulása gyakoribb volt a CS+ és/vagy MI+ csoportokban. A dohányzás tekintetében a csoportok között különbségek nem mutatkoztak. A laboratóriumi paraméterek közül a fibrinogén, triglicerid, HDL-koleszterin, homocisztein és Lp(a) nem mutattak Gaussi eloszlást, ezért logaritmusos transzformációt követően elemeztük azokat. A klinikai kontrollokhoz viszonyítva az éhgyomri triglicerid és homocisztein szintek szignifikánsan emelkedtek, míg a HDL-koleszterin és apoA1 szintek csökkentek a CS+MI- és CS+MI+ csoportokban. Az Lp(a) és a fibrinogén emelkedése csak a CS+MI+ csoportban érte el a szignifikancia határt. A szérum összkoleszterin, LDL-koleszterin és apoB értékek tekintetében az egyes betegcsoportok nem különböztek szignifikánsan egymástól (1. táblázat).

A táblázatban a HDL-koleszterin, triglicerid, Lp(a), fibrinogén és homocisztein mértani átlag értékei (antilog 95%CI) szerepelnek, a többi numerikus változó esetében a számtani átlagokat (95%CI) tüntettük fel. A táblázatban szereplő p értékek a klinikai kontrollokhoz viszonyított szignifikancia szinteket jelentik.

1. táblázat: A különböző betegcsoportok főbb jellemzői

Paraméterek	CS-MI- (n=302)		CS-MI+ (n=34)		CS+MI- (n=312)		CS+MI+ (n=307)	
	Átlag (95% CI)		Átlag (95% CI)	p	Átlag (95% CI)	p	Átlag (95% CI)	p
Nem (férfi/nő)	124/178		23/11	0.003	200/112	<0.001	231/76	<0.001
Diabetes mellitus (-/+)	278/24		27/7	0.02	253/59	<0.001	237/70	<0.001
Dohányzás (-/+)	261/41		30/4	0.77	275/37	0.52	264/43	0.88
Életkor (év)	55.5 (54.4-56.7)		55.4 (51.8-59.0)	0.92	60.8 (59.7-61.9)	<0.001	58.6 (57.4-59.8)	0.001
Összkoleszterin (mmol/L)	5.54 (5.41-5.66)		5.67 (5.24-6.10)	0.54	5.60 (5.45-5.74)	0.56	5.38 (5.26-5.51)	0.09
LDL koleszterin (mmol/L)	3.45 (3.34-3.56)		3.59 (3.22-3.96)	0.46	3.54 (3.41-3.66)	0.32	3.35 (3.24-3.45)	0.18
HDL koleszterin (mmol/L)	1.22 (1.19-1.26)		1.16 (1.06-1.25)	0.19	1.15 (1.11-1.18)	0.004	1.08 (1.05-1.11)	<0.001
Apo B (g/L)	1.04 (1.01-1.07)		1.08 (0.99-1.18)	0.36	1.08 (1.05-1.12)	0.05	1.05 (1.02-1.08)	0.56
Apo AI (g/L)	1.43 (1.40-1.46)		1.38 (1.29-1.46)	0.21	1.38 (1.35-1.42)	0.02	1.32 (1.29-1.34)	<0.001
Triglicerid (mmol/L)	1.53 (1.44-1.63)		1.70 (1.42-2.05)	0.27	1.70 (1.62-1.80)	0.009	1.79 (1.69-1.89)	<0.001
Lp(a) (mg/L)	200 (181-221)		165 (128-212)	0.16	215 (193-240)	0.32	249 (222-280)	0.005
Fibrinogén (g/L)	3.82 (3.71-3.94)		3.67 (3.26-4.14)	0.52	3.90 (3.79-4.02)	0.32	3.99 (3.86-4.13)	0.06
Homocisztein (µmol/L)	12.1 (11.6-12.5)		13.4 (12.0-14.9)	0.08	13.6 (13.0-14.1)	<0.001	14.0 (13.5-14.6)	<0.001
FXIII aktivitás (%)	101 (99-104)		105 (96-115)	0.38	102 (100-105)	0.59	102 (99-104)	0.68
FXIII antigén (mg/L)	22.4 (21.9-23.0)		23.7 (21.7-25.8)	0.22	22.2 (21.7-22.8)	0.62	22.1 (21.6-22.7)	0.43



*A populációs kontroll csoport jellemzői:*

Az 1146 vizsgált személy átlagéletkora 46,2 (95% CI: 45,2-47,1) év volt. A férfiak aránya 46,2%, a nők aránya 53,5% volt. A különböző betegcsoportok populációs kontroll csoporthoz (magyar általános populáció) történő hasonlításakor az esélyhányadosokat e két paraméterre (nem, életkor) korrigáltuk.

*A FXIII-A Val34Leu polimorfizmus gyakoriságának meghatározása a magyar általános populációban és a különböző betegcsoportokban, a Leu34 allél jelenlétének CS és MI kialakulásának kockázatára gyakorolt hatása, a kockázatra gyakorolt hatás vizsgálata a fibrinogén szint függvényében:*

A FXIII-A Val34Leu genotípusok megoszlása a populációs kontroll és a klinikai kontroll csoportban gyakorlatilag megegyezett. A Leu34 allél frekvenciája az általános populációban 25,9%-nak, a klinikai kontroll csoportban 25,8%-nak adódott. A Leu34 hordozó frekvencia az általános populációban 45,1%, a klinikai kontroll csoportban 44,7% volt. A CS-MI+, CS+MI- és CS+MI+ csoportokban a Leu34 allélfrekvencia 32,4%, 26,6% és 23,9%, a Leu34 karrier frekvencia pedig 55,9%, 45,9% és 42,7% volt. Az általános populációtól, vagy a klinikai kontroll csoporttól való eltérés a  $\chi^2$  tesztekben egy esetben sem bizonyult szignifikánsnak. A CS-MI+, CS+MI- és CS+MI+ csoportokat a populációs kontroll (nemre és korra korrigált OR), vagy klinikai kontroll csoportokhoz (nemre, korra, összkoleszterinre, fibrinogénre, diabetes mellitus jelenlétére, Lp(a)-ra és homociszteinre korrigált OR) hasonlítottuk, mivel ezek a paraméterek mutattak egymástól függetlenül is befolyásoló hatást a CS/MI-ra nézve. Erdményeink szerint sem a Leu34 allél hordozása, sem a Leu34 homozigótaság nem hatott szignifikánsan a CS és/vagy MI kialakulására (2. táblázat). A Leu34 allél hordozás és a Leu34 homozigótaság hatását a CS kialakulására az összevont CS+ csoportban (CS+MI- és CS+MI+) és az összevont MI+ csoportban (CS-MI+ és CS+MI+) is megvizsgáltuk. Szignifikáns kockázatfokozó, vagy csökkentő hatás sem a CS, sem a MI vonatkozásában nem volt igazolható.

2. táblázat: FXIII-A Val34Leu genotípus megoszlás, Leu34 hordozó és allél frekvencia értékek in populációs kontroll és az egyes beegcsoportokban

	Általános populáció n=1,146	CS-MI- n=302	CS-MI+ n=34	CS+MI- n=312	CS+MI+ n=307
Val34Leu genotípus					
vad típus	629 (54.9%)	167 (55.3%)	15 (44.1%)	169 (54.2%)	176 (57.3%)
heterozigóta	440 (38.4%)	114 (37.7%)	16 (47.1%)	120 (38.4%)	115 (37.5%)
homozigóta	77 (6.7%)	21 (7.0%)	3 (8.8%)	23 (7.4%)	16 (5.2%)
L34 hordozó frekvencia	45.1%	44.7%	55.9%	45.9%	42.7%
L34 allél frekvencia	25.9%	25.8%	32.4%	26.6%	23.9%
OR (L34 hordozás)*	-	1.01 (0.78-1.31)	1.57 (0.79-3.14)	1.08 (0.82-1.42)	0.90 (0.69-1.19)
OR (L/L genotípus)*	-	1.15 (0.68-1.94)	1.70 (0.47-6.12)	1.27 (0.74-2.18)	0.75 (0.41-1.38)
OR (L34 hordozás) <sup>†</sup>	-	-	1.49 (0.69-3.25)	0.94 (0.65-1.37)	0.93 (0.63-1.37)
OR (L/L genotípus) <sup>†</sup>	-	-	1.80 (0.43-7.57)	0.87 (0.40-1.90)	0.76 (0.32-1.82)

\*A különböző csoportok a populációs kontroll csoporthoz viszonyítva, az OR-t korra és nemre korrigálva adjuk meg, <sup>†</sup> a különböző betegcsoportok a klinikai kontroll csoporthoz viszonyítva, az OR-t korra, nemre, összkoleszterinre, fibrinogénre, diabetes mellitus jelenlétére, Lp(a)-ra és homociszteinre korrigálva adjuk meg. Az OR értékek alatt zárójelben azok 95% konfidencia intervallumait tüntettük fel.

Annak vizsgálatára, hogy a Leu34 hatását befolyásolja-e a plazma fibrinogén koncentrációja, azokat a betegeket, akik fibrinogén szintje a felső negyedbe esett (4,6 g/L felett) külön is elemeztük. Az esélyhányadosokat korra, nemre, Lp(a)-ra, homociszteinre, triglicerid szintre és a dohányzásra korrigáltuk, mivel ezen paraméterek mutattak egymástól függetlenül is szignifikáns összefüggést a CS-sal és a MI-sal (3. táblázat). Ebben az esetben a Leu34 karrier státusznak statisztikailag szignifikáns védő hatása volt a CS+MI+ kialakulásával szemben (OR 0,40, 95%CI: 0,18-0,89, p<0,05). Az összevont CS+ és MI+ csoportokat vizsgálva a Leu34 allél hordozása mind a CS (OR 0,46, 95%CI: 0,22-0,98) mind az MI (OR 0,41, 95%CI: 0,18-0,93) ellen protektívnek bizonyult. Mindezek alapján arra következtethetünk,

hogyan a magyar populációban a Leu34 allél védő hatása csak a magasabb fibrinogén koncentrációval rendelkező egyének esetén érvényesül. Mivel a fibrinogén akut fázis fehérje, azt is vizsgáltuk, hogy a Leu34 allél protektív hatása az emelkedett CRP szinttel rendelkezőkben érvényesül-e. Sem a CS+, sem az MI+ csoportokban nem volt észlelhető a védő hatás. Mindezek alapján megállapítható, hogy a Leu34 allél protektív hatása valóban fibrinogénre és nem az akut fázis reakcióra (pl. gyulladás) specifikus.

3. táblázat: FXIII-A Val34Leu genotípus megoszlás, Leu34 hordozó és allél frekvencia értékek a különböző, felső negyedbe eső fibrinogén szinttel rendelkező betegcsoportokban

	CS-MI- n=58	CS-MI+ n=9	CS+MI- n=55	CS+MI+ n=80	CS+ n=135	MI+ n=89
Val34Leu genotípus:						
vad típus	28 (48.3%)	5 (55.6%)	31 (56.4%)	51 (63.8%)	82 (60.7%)	56 (62.9%)
heterozigóta	27 (46.6%)	3 (33.3%)	22 (40.0%)	24 (30.0%)	46 (34.1%)	27 (30.3%)
homozigóta	3 (5.2%)	1 (11.1%)	2 (3.6%)	5 (6.3%)	7 (5.2%)	6 (6.7%)
L34 hordozó frekvencia	51.7%	44.4%	43.6%	36.3%	39.3%	37.1%
L34 allél frekvencia	28.4%	27.8%	23.6%	21.3%	22.2%	21.9%
OR (L34 hordozók)	-	0.58 (0.11-3.09)	0.79 (0.34-1.88)	0.40 (0.18-0.89) <sup>†</sup>	0.46 (0.22-0.98) <sup>†</sup>	0.41 (0.18-0.93) <sup>†</sup>

<sup>†</sup> p<0,05 a klinikai kontroll csoporthoz viszonyítva

*A FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa és a coronaria sclerosis/myocardialis infarctus közötti összefüggés ellentmondó eredményeinek összefoglaló elemzése meta-analízissel:*

A meta-analízisbe a saját eredményeinken túlmenően olyan tanulmányokat választottunk a MEDLINE-ből, ahol a coronaria betegség definíciója a MI dokumentálásán, vagy coronarographiával igazolt CS jelenlétén alapult. A meta-analízisbe összesen 16 közleményből származó 5346 beteg és 7053 kontroll személy került bevonásra. A 16 tanulmány döntő többsége a kaukázusi populáción történt, 11

tanulmány európai országból, 1 Dél-Amerikából és 4 Észak-Amerikából származott (4. táblázat).

4. táblázat: A meta-analízisbe bevont tanulmányok

szerző, megjelenés éve (sorszám az irodalomjegyzékben)	ország	esetek (n)	Kontroll személyek (n)
Kohler, 1998 (8)	Nagy-Britannia	legalább 50% stenosis egy coronariában (398*, ezek közül 197 MI+)	háziorsvosi regiszterből MI és angina-mentes korra és nemre válogatott személyek (196)
Wartiovaara, 1999 (9)	Finnország	boncolási anyagban talált MI (68) és coronaria stenosis score $\geq 20$ (58)	boncolási anyagban MI kizárható (218)
Canavy, 2000 (11)	Franciaország	akut MI (201)	korra, nemre, BMI-re válogatott egészséges véradók (244)
Corral, 2000 (36)	Spanyolország	akut coronaria esemény túlélői (101)	korra, nemre, rasszra válogatott, vaszkuláris betegségtől mentes személyek (101)
Franco, 2000 (31)	Brazília	akut MI és legalább 50% CS (150)	korra, nemre, rasszra válogatott véradók (150)
Gemmati, 2001 (32)	Olaszország	legalább 50% stenosis egy coronariában (240, ezek közül 120 MI+)	korra, nemre, rizikó faktorokra válogatott, vaszkuláris betegségtől mentes személyek ugyanabból a kórházból (240)
Aleksic, 2002 (39)	USA	coronaria betegek (MI, cardiovascularis halálozás, coronaria revascularizatio) (423)	minták az "ARIC" kohorszból (479)
Kakko, 2002 (33)	Finnország	nem halálos kimenetelű MI (142)	korra, nemre válogatott, coronaria betegségtől mentes, az adott régióban élő személyek (142)
Reiner, 2002 (44)	USA	nem halálos kimenetelű MI+ nők (68)	nők a populációból randomszerűen kiválasztva (345)
Doggen, 2003 (45)	Hollandia	MI+ férfiak (560)	korra válogatott férfiak (646)
Reiner, 2003 (46)	USA	nem halálos kimenetelű MI+ nők postmenopausában (234)	korra és hypertonia jelenlétére válogatott nők (721)

4. táblázat (folytatás): A meta-analízisbe bevont tanulmányok

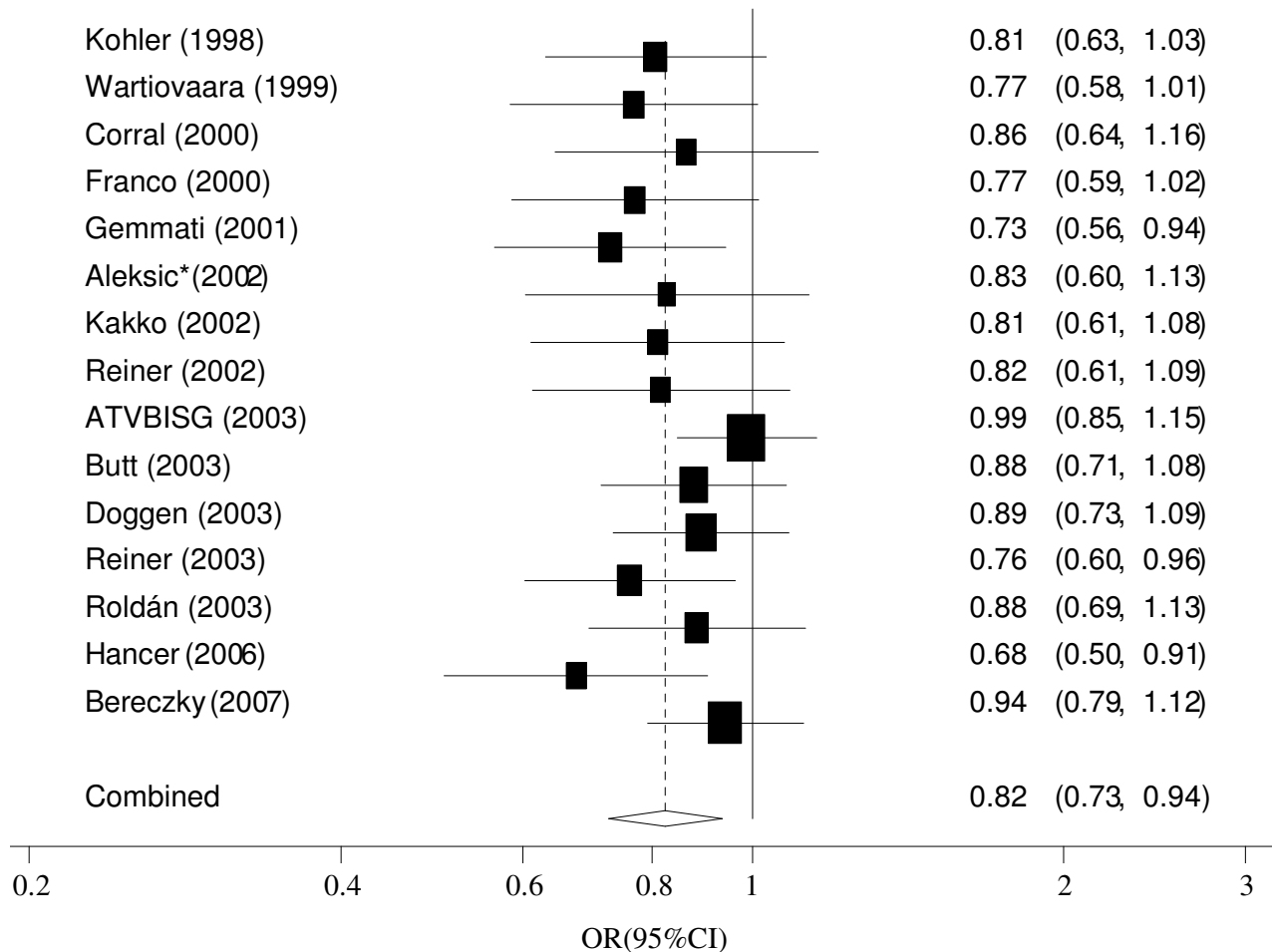
szerző, megjelenés éve (sorszáma az irodalomjegyzékben)	ország	esetek (n)	Kontroll személyek (n)
ATVBISG, 2003 (38)	Olaszország	első MI (1210)	korra, nemre, földrajzi területre válogatott kórházi személyzet (1210)
Butt, 2003 (40)	Kanada	akut MI (500)	nem cardialis és nem thromboticus esemény miatt sürgősségi osztályra felvett beteg (500)
Roldan, 2003 (37)	Spanyolország	akut, nem halálos kimenetelű MI (210)	véradók és cardiovascularis betegségben nem szenvedő betegek a traumatológiáról és a szemészetről (585)
Hancer, 2006 (35)	Törökország	MI+ anamnesis (130)	egészséges kontrollok (eredet nem tisztázott) thromboticus betegség nincs az anamnesisben (130)
Bereczky, 2007	Magyarország	legalább 50% egy coronariában (619), vagy MI+ anamnesis (341) (307 CS+MI+)	A forráspopulációból származó reprezentatív minta (populációs kontroll személyek) (1146)

ARIC: Az "Atherosclerosis Risk in Community" tanulmány, ATVBISG: Az "Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology Italian Study Group" tanulmánya, \* a 398 betegből 75%-nál találtak szignifikáns coronaria stenosiszt,

Mivel a különböző tanulmányokban közölt OR értékek túl széles tartományt öleltek fel és a heterogenitás vizsgálat szignifikánsnak bizonyult, empirikus random-hatás Bayes modellt alkalmaztunk a tanulmány-specifikus OR-k kalkulálására és azok összegzésére. Ez konzervatívabb becslést tesz lehetővé a fix-hatás modellekhez viszonyítva, valamint csökkenti az extrém eredményeket tartalmazó tanulmányok zavaró hatását. A coronaria betegség, mint kimeneteli változó mellett az analízist külön a MI-ra is elvégeztük.

A coronaria betegség átlagos kockázata 18%-kal volt alacsonyabb a Val/Leu heterozigótákban a Val/Val vad típusúakhoz viszonyítva (OR: 0,82, 95%CI: 0,73-0,94) (1. ábra).

1. ábra: A FXIII-A Val/Leu versus Val/Val genotípusok összefüggése a coronaria betegséggel

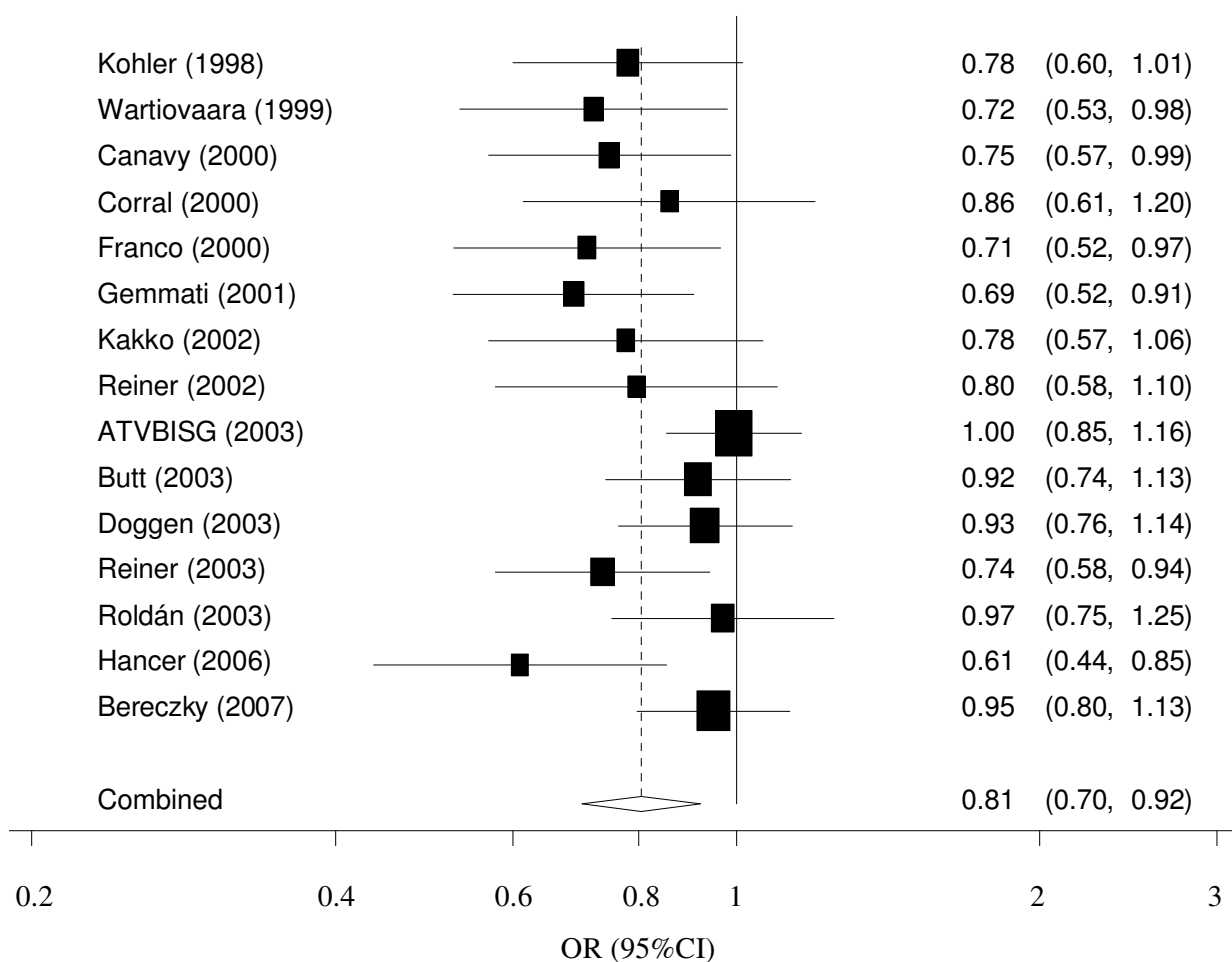


Az ábrán a fekete négyzetek nagysága az empirikus Bayes kalkulációból származó OR értékekre vonatkozó becslés pontosságával arányos, a vízszintes vonalak a 95%CI- tartományt jelölik. A fehér rombusz jelzi az összesített OR értéket. Az ábra jobb oldalán az OR értékek (95%CI) vannak feltüntetve. \*Ebben a tanulmányban nem OR, hanem “hazard ratio (HR)” szerepel.



A Leu/Leu homozigóták esetén az OR 0,89 volt (95%CI: 0,69-1,13). Amennyiben a Leu allélt hordozókat (Val/Leu heterozigóták és Leu/Leu homozigóták együtt) hasonlítottuk a Val/Val vad típusúakhoz az OR 0,81 volt (95%CI: 0,70-0,92) (2. ábra).

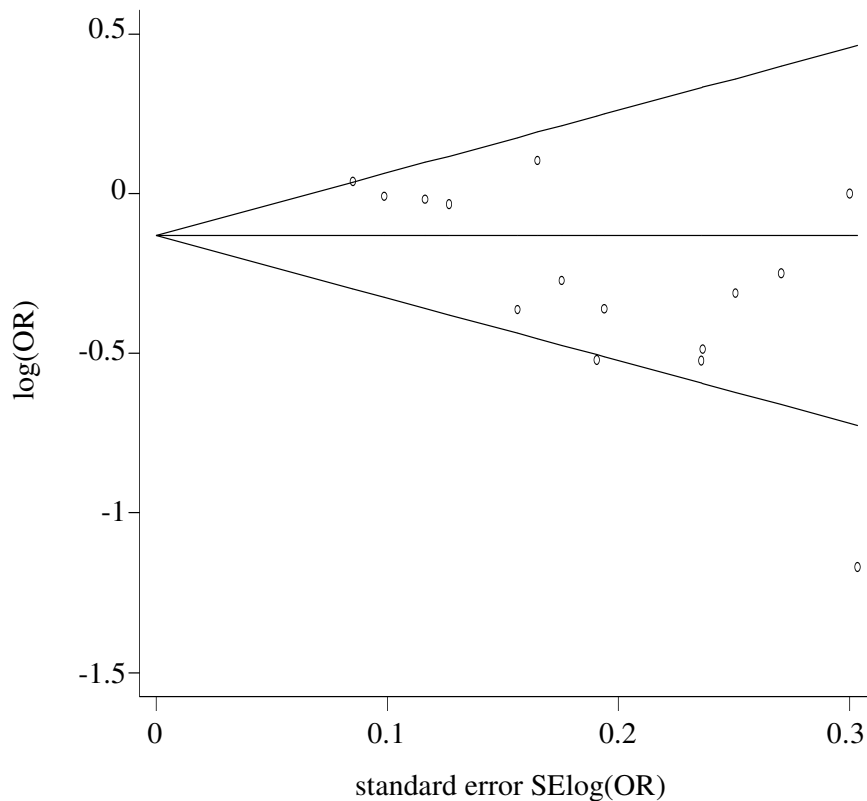
2. ábra: A FXIII-A Val/Leu és Leu/Leu versus Val/Val genotípusok összefüggése a coronaria betegséggel



Az ábrán a fekete négyzetek nagysága az empirikus Bayes kalkulációból származó OR értékekre vonatkozó becslés pontosságával arányos, a vízszintes vonalak a 95%CI- tartományt jelölik. A fehér rombusz jelzi az összesített OR értéket. Az ábra jobb oldalán az OR értékek (95%CI) vannak feltüntetve.

Amennyiben a MI-t mint kimeneteli változót külön értékeltük, az eredmények érdemben nem változtak. A Leu allél hordozása a MI kockázatának 16%-os csökkenését eredményezi (OR 0,84, 95%CI: 0,76-0,94). A publikációs torzítás (egyek tanulmányok eredményeinek a nem közlése) vizsgálatára végzett Egger-teszt szignifikánsnak bizonyult ( $p=0,002$ ), a funnel-plot analízis is azt jelzi, hogy néhány kisebb tanulmány, ami nem találta protektív hatását a Leu allélnek, feltehetően hiányzik a közölt irodalomból (3. ábra).

3. ábra: A Val/Leu és Leu/Leu versus Val/Val eredmények funnel plot analízise



*A FXIII szintek összefüggése a coronaria sclerosissal/myocardialis infarctussal, a nemek közötti különbségek vizsgálata:*

A korrigálatlan FXIII aktivitás és antigén értékek nem mutattak szignifikáns különbségeket egyik betegcsoportban sem a klinikai kontrollokhoz viszonyítva (1. táblázat). A klinikai kontrollok FXIII aktivitása és antigén koncentrációja nem különbözött szignifikánsan a korábban laboratóriumunkban meghatározott egészséges személyek esetében mért értékektől (19,23). A plazma FXIII aktivitása és az A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> komplex koncentrációja jó korrelációt mutatott. A korrelációs koefficiensek 0,86 és 0,93 közé estek a különböző betegcsoportoknál, ami jelzi, hogy a két módszer (funkcionális teszt és ELISA) ugyanazon plazma komponens különböző tulajdonságát vizsgálja. A többszörös lineáris regresszió analízis azt jelezte, hogy a nem, a dohányzás, a szérum összkoleszterin és a fibrinogén szint a többi paramétertől függetlenül is szignifikáns összefüggést mutat a FXIII aktivitással és antigén szinttel, ezért a további elemzésekkor a FXIII szinteket ezekre a paraméterekre korrigálva vizsgáltuk. Amennyiben a betegeket nemek szerint nem osztottuk további csoportokba, az egyes csoportokban mért korrigált FXIII szintek nem mutattak szignifikáns különbségeket a klinikai kontrollokhoz, ill. egymáshoz viszonyítva. Amennyiben azonban a betegcsoportokat nemek szerint tovább osztályoztuk, szignifikáns nemektől függő különbségeket észleltünk a FXIII szintekben (5. táblázat). Férfiak esetében sem a CS, sem az MI nem befolyásolta a FXIII szinteket. A CS önmagában nőkben sem eredményezett különbségeket. Ha viszont a CS+ nők MI-ban is szenvedtek, a FXIII aktivitása és antigén koncentrációja szignifikánsan emelkedett volt a CS+, de MI- nőkhöz viszonyítva (FXIII aktivitás: 107%, 95%CI: 100-115 versus 98%, 95%CI: 92-105, p=0,02, FXIII antigén: 24,1 mg/L, 95%CI: 22,4-25,8 versus 22,1 mg/L, 95%CI: 20,6-23,5, p=0,02). A női CS+MI+ csoport FXIII antigén szintje a klinikai kontrollokhoz viszonyítva is szignifikánsan emelkedett volt. Ugyanez a különbség a FXIII aktivitás vonatkozásában nem érte el a szignifikancia határt. A CS-MI+ nők FXIII aktivitás és antigén értékei bár a legmagasabbak voltak az összes betegcsoport között (FXIII aktivitás: 112%, 95%CI: 97-126; FXIII antigén: 25,1 mg/L, 95%CI: 21,7-28,5) de a csoport kis létszáma miatt az emelkedés statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak. Az összevont női MI+ csoport (CS-MI+ és CS+MI+ együtt) szintén szignifikánsan emelkedett FXIII szinteket mutatott a klinikai kontrollokhoz viszonyítva. A FXIII aktivitása az

összevont MI+ csoportban 108% (95%CI: 101-115), a klinikai kontrollokban 101% (95%CI: 96-107) volt,  $p=0,04$ . A FXIII antigén szintje az összevont MI+ csoportban 24,2 mg/L (95%CI: 22,6-25,5), a klinikai kontrollokban 22,6 mg/L (95%CI: 21,4-23,7) volt,  $p=0,02$ .

A táblázatban szereplő  $p$  értékek a klinikai kontroll csoporttal történő összehasonlításra vonatkoznak (CS-MI-). §  $p = 0.02$  a CS+MI- csoporthoz viszonyítva. ¶  $P = 0.02$  a CS+MI- csoporthoz viszonyítva.

5. táblázat: Korrigált FXIII szintek a különböző női és férfi betegcsoportokban

	CS-MI-	CS-MI+		CS+MI-		CS+MI+	
	Átlag (95% CI)	Átlag (95% CI)	p	Átlag (95% CI)	p	Átlag (95% CI)	p
FXIII aktivitás							
	(%)						
férfi+nő	103 (100-106)	106 (98-114)	0.45	101 (98-104)	0.19	102 (99-105)	0.59
nő	101 (96-107)	112 (97-126)	0.16	98 (92-105)	0.28	<b>107 (100-115)§</b>	0.09
férfi	103 (99-107)	103 (94-113)	0.88	101 (97-105)	0.55	101 (97-104)	0.39
FXIII antigén							
	(mg/L)						
férfi+nő	22.9 (22.2-23.6)	24.0 (22.2-25.8)	0.24	22.2 (21.5-23.0)	0.13	22.6 (21.9-23.3)	0.46
nő	22.6 (21.4-23.7)	25.1(21.7-28.5)	0.13	22.1 (20.6-23.5)	0.46	<b>24.1 (22.4-25.8)¶</b>	0.04
férfi	23.0 (22.0-24.0)	23.5 (21.3-25.7)	0.68	22.2 (21.4-23.1)	0.21	22.2 (21.4-23.0)	0.16

A tanulmány során azt is vizsgáltuk, hogy az emelkedett FXIII szintek CS-ra és MI-ra jelentenek-e fokozott kockázatot (6. táblázat). A felső harmadba eső FXIII aktivitás (>110%) és FXIII antigén (>24,1 mg/L) szintekkel rendelkezők CS és MI kockázatát viszonyítottuk az ennél alacsonyabb FXIII szintekkel rendelkezőkhöz az egyes betegcsoportokban logisztikus regressziós modellben. Férfiak esetén az emelkedett FXIII aktivitás és antigén szint nem fokozta sem a CS, sem az MI kockázatát. A férfi CS-MI+, CS+MI- és CS+MI+ alcsoportokat a férfi klinikai kontroll csoporthoz viszonyítva az OR értékek minden esetben 1,0 körüliek voltak. Hasonlóképpen, a nők között az emelkedett FXIII szintek nem jelentettek fokozott rizikót a CS-ra önmagában (CS+MI- versus CS-MI-). Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az emelkedett FXIII szintek nem jelentenek fokozott kockázatot a súlyos atherosclerosis kialakulására egyik nemben sem. Ezzel ellentétben, ha a CS-ben szenvedő és MI-on átesett női populációt vizsgáltuk, magas OR értéket kaptunk, mely erős statisztikai szignifikanciát mutatott (emelkedett FXIII aktivitás: CS+MI+ versus CS-MI-: OR 3,091, 95%CI: 1,648-5,798,  $p < 0,001$  és emelkedett FXIII antigén: CS+MI+ versus CS-MI-: OR 2,346, 95%CI: 1,269-4,336,  $p = 0,007$ ). Annak érdekében, hogy az emelkedett FXIII szintek CS-ra és MI-ra jelentett kockázatfokozó hatását jobban különválaszthassuk, a CS-ban szenvedő nők között (CS+) külön vizsgáltuk az emelkedett FXIII szintek MI-ra jelentett rizikó mértékét (CS+MI+ versus CS+MI-). Az emelkedett FXIII szintek ebben a vizsgálati rendszerben is szignifikáns kockázatfokozó hatást jelentettek a MI-ra nézve. Az emelkedett FXIII aktivitásra nézve az OR 1,873 (95%CI: 1,015-3,458),  $p = 0,04$ , míg az emelkedett FXIII antigénre nézve az OR 1,999 (95%CI: 1,051-3,765),  $p = 0,03$  volt. Az eredmények alapján megállapítható, hogy az emelkedett FXIII szintek fokozott kockázatot jelentenek a MI kialakulására CS-ban szenvedő nők esetén, ugyanez a hatás férfiak esetében nem érvényesül.

6. táblázat: Az emelkedett FXIII szintek hatása a CS és MI kockázatára a különböző női és férfi betegcsoportokban

	CS+MI- versus CS-MI-		CS-MI+ versus CS-MI-		CS+MI+ versus CS-MI-		CS+MI+ versus CS+MI-	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
<b>FXIII</b>								
<b>aktivitás</b>								
nők	1.553 (0.913-2.642)	0.10	2.437 (0.648-9.138)	0.19	3.091 (1.648-5.798)	<0.001	1.873 (1.015-3.458)	0.04
férfiak	1.401 (0.842-2.332)	0.19	1.356 (0.528-3.482)	0.53	1.015 (0.608-1.694)	0.96	0.719 (0.476-1.086)	0.12
<b>FXIII antigén</b>								
nők	1.286 (0.752-2.199)	0.36	2.287 (0.629-8.321)	0.21	2.346 (1.269-4.336)	0.007	1.999 (1.051-3.765)	0.03
férfiak	0.757 (0.459-1.248)	0.28	1.196 (0.479-2.988)	0.70	0.753 (0.457-1.240)	0.27	0.918 (0.602-1.398)	0.69

*A coronaria sclerosis/myocardialis infarctus hatása a plazma FXIII szintekre a FXIII-A Val34Leu polimorfizmus különböző genotípusaiban:*

Korábbi vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy az egészséges kontroll személyek FXIII aktivitása és antigén koncentrációja nem különbözik szignifikánsan az egyes Val34Leu genotípusokban (7). Hasonlóképpen a klinikai kontroll csoportban, bár enyhe tendencia mutatkozott a Leu34 allélek növekvő számával párhuzamosan a FXIII szintek csökkenésének irányába, de ezek a különbségek igen távol voltak a statisztikai szignifikanciától. A CS+ betegekben azonban a FXIII-A Leu34 homozigóták FXIII aktivitás és antigén szintje szignifikánsan (10%-kal) alacsonyabb volt mint az ugyanezen csoport Val/Val genotípusú egyéneké ( $p < 0,05$ ). Az összesen 619 főből álló CS+ csoportban a FXIII aktivitása a Val/Val, Val/Leu és Leu/Leu alcsoportokban 104% (95%CI: 100-107), 103% (95%CI: 99-107) és 94% (95%CI: 86-103) volt. A FXIII antigén koncentráció a Val/Val, Val/Leu és Leu/Leu alcsoportokban 23,2 mg/L (95%CI: 22,4-24,1), 22,7 mg/L (95%CI: 21,8-23,6) és 20,9 (95%CI: 19,0-22,9) volt. A MI-on átesett betegcsoportban (MI+, 341 fő) a Leu/Leu homozigóták még kifejezettebb FXIII csökkenést mutattak. Ebben a csoportban a Leu/Leu homozigóták FXIII szintjei nemcsak a Val/Val genotípusúakéhoz viszonyítva, de a Val/Leu heterozigóták FXIII szintjeihez képest is szignifikánsan csökkentek voltak (7. táblázat).



7. táblázat: A különböző betegcsoportok FXIII aktivitása és antigén szintje a FXIII-A Val34Leu polimorfizmus függvényében

Val34Leu genotípus	CS-MI- (n=302)		CS+ (n=619)		MI+ (n=341)	
	FXIII aktivitás (%)	n	FXIII aktivitás (%)	n	FXIII aktivitás (%)	n
Val/Val	105 (101-109)	167 (55.3%)	104 (100-107)	345 (55.7%)	107 (102-112)	191 (56.0%)
Val/Leu	102 (97-106)	114 (37.7%)	103 (99-107)	235 (38.0%)	106 (101-111)	131 (38.4%)
Leu/Leu	100 (91-109)	21 (7.0%)	94 (86-103)*	39 (6.3%)	88 (76-99)* <sup>†</sup>	19 (5.6%)
	FXIII antigén (mg/L)		FXIII antigén (mg/L)		FXIII antigén (mg/L)	
Val/Val	23.1 (21.1-24.1)	167 (55.3%)	23.2 (22.4-24.1)	345 (55.7%)	24.0 (22.8-25.1)	191 (56.0%)
Val/Leu	22.8 (21.7-23.8)	114 (37.7%)	22.7 (21.8-23.6)	235 (38.0%)	23.2 (22.0-24.5)	131 (38.4%)
Leu/Leu	21.8 (19.8-23.9)	21 (7.0%)	20.9 (19.0-22.9)*	39 (6.3%)	20.3 (17.6-23.0) * <sup>†</sup>	19 (5.6%)

A FXIII szinteket nemre, dohányzásra, összkoleszterinre és fibrinogénre korrigáltuk.

A FXIII aktivitás és antigén értékek alatt zárójelben a 95%CI szerepel. \*p < 0.05 Leu/Leu versus Val/Val, <sup>†</sup>p < 0.05 Leu/Leu versus Val/Leu.

Természetesen a CS+ csoportba tartozó betegek egy részének az anamnesisében szerepel MI, másoknak nem. Annak vizsgálatára, hogy a Leu/Leu homozigóták csökkent FXIII szintje a CS+ betegeknél a MI-n átesettek hiányában is érvényesül-e, ezt a csoportot (CS+MI-) külön is elemeztük. A 312 főből álló CS+MI-csoportban a FXIII aktivitása a Val/Val, Val/Leu és Leu/Leu alcsoportokban 103% (95%CI: 98-108), 101% (95%CI: 95-107) és 97% (95%CI: 86-109) volt. A FXIII antigén koncentráció a Val/Val, Val/Leu és Leu/Leu alcsoportokban 22,9 mg/L (95%CI: 21,8-24,1), 22,5 mg/L (95%CI: 21,2-23,8) és 20,9 (95%CI: 18,3-23,6) volt. Bár a csökkenő tendencia a Leu allélek számának emelkedésével párhuzamosan egyértelmű, a különbségek a statisztikai szignifikancia határt egy esetben sem érték el.

Elméletileg a FXIII aktivitás csökkenés a FXIII molekulák csökkenő koncentrációja miatt, vagy adott mennyiségű FXIII fehérje csökkent aktivitása miatt is létrejöhet. A FXIII aktivitás és antigén koncentráció párhuzamos csökkenése az

előbbi lehetőséget támogatja. Annak érdekében, hogy ezt a feltevést teljes mértékben igazolhassuk, meghatároztuk az egyes betegcsoportok különböző FXIII-A Val34Leu genotípusaihoz tartozó specifikus FXIII aktivitás értékeket, vagyis az adott FXIII koncentrációhoz tartozó aktivitást és az eredményeket Unit/mg-ban fejeztük ki. Gyakorlatilag minden betegcsoport minden Val34Leu genotípusú alcsoportjában azonos specifikus aktivitás értékeket kaptunk (8. táblázat). Ez arra utal, hogy a Leu/Leu homozigótáknál a FXIII aktivitás csökkenésének hátterében valóban a FXIII fehérje csökkent koncentrációja áll.

8. táblázat: A FXIII-A Val34Leu polimorfizmus hatása a FXIII specifikus aktivitására a különböző betegcsoportokban

Val34Leu genotípus	CS-MI- (n=302)		CS+ (n=619)		MI+ (n=341)	
	FXIII specifikus aktivitás (U/mg)	n	FXIII specifikus aktivitás (U/mg)	n	FXIII specifikus aktivitás (U/mg)	n
Val/Val	7.19 (7.06-7.31)	167	7.25 (7.16-7.34)	345	7.22 (7.10-7.34)	191
Val/Leu	7.00 (6.88-7.13)	114	7.27 (7.17-7.38)	235	7.30 (7.16-7.45)	131
Leu/Leu	7.12 (6.61-7.63)	21	7.32 (7.03-7.61)	39	7.03 (6.56-7.49)	19

A specifikus aktivitás értékek után zárójelben azok 95%CI-t tüntettük fel.

## MEGBESZÉLÉS

A FXIII-A Leu34 allél frekvenciája a kaukázusi populációban 24,5-28,8% között, igen szűk tartományban változik (8-16). Az általunk vizsgált populációs kontroll csoport (25,9%) és klinikai kontroll csoport (25,8%) allélfrekvencia adatai igen jól illeszkednek ebbe a tartományba. A feketék és az ázsiaiak Leu34 allélfrekvenciája jóval alacsonyabb, a japánokban a polimorfizmus extrém ritka (12,14,16). Az első eset-kontroll tanulmányban, ami a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa és a MI közötti összefüggést vizsgálta, a Leu34 allél protektív hatását vetették fel (8). Ezt később finn, brazil, észak-olasz és török tanulmányok megerősítették (9,31-33,35). Ezzel szemben kisebb francia és spanyol tanulmányok, valamint egy nagy, 1210 beteg és ugyanennyi kontroll személy bevonásával készült olasz tanulmány nem tudta megerősíteni a Leu34 allél védő hatását (11,36-38). Ezen tanulmányok szerint a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa semleges a MI kockázata szempontjából. Saját

eredményeink, egybehangzóan két korábbi észak-amerikai tanulmányhoz hasonlóan azt mutatják, hogy a korábbi feltevessel ellentétben a Leu34 allél protektív hatásának elmaradása nem kizárólag a mediterrán populációban, illetve az alacsony coronariabetegség incidenciával jellemezhető népcsoportokban fordul elő (39,40).

Feltehető, hogy a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusával kapcsolatban született eltérő eredmények háttérében gén-gén, illetve gén-környezet kölcsönhatások állnak, melyek befolyásolják a Leu34 allél protektív hatását (19,47). Korábbi közlések szerint a polimorfizmus cardio-protektív hatása inzulin rezisztenciában elvész, különösen magas PAI-1 szinttel rendelkezőkben (48). A fibrinogén, mint cardiovascularis kockázati tényező és a FXIII-A Val34Leu polimorfizmus összefüggésének vizsgálata több korábbi biokémiai megfigyelés alapján érdekesnek tűnik. A FXIII-A Val34Leu polimorfizmusának következménye a mutáns FXIII trombin által történő aktivációjának megnövekedett sebessége (7,17,18) és a fibrin háló szerkezetének megváltozása (17,41). Az alvadék permeabilitásának fibrinogén koncentráció emelkedésével párhuzamos csökkenését a Leu34 allél jelenléte elfedi. Skenning elektronmikroszkóppal kimutatták, hogy magas fibrinogén koncentráció esetén (5,0 és 7,7 g/L) a Leu/Leu homozigóták fibrin alvadéka lazább szerkezetű és vastagabb rostokból áll (41). Az ilyen szerkezetű fibrinháló gyorsabban degradálódik a fibrinolízis által, mint a vékonyabb rostokból álló, kompaktabb szerkezetű (49). Saját eredményünk, mely szerint a Leu34 allél protektív hatása csak magasabb fibrinogén koncentráció esetén érvényesül, teljes összhangban áll az in vitro kísérleti eredményekkel és arra utal, hogy a Leu34 allél védő hatásának háttérében a fibrinháló gyorsabb fibrinolízis általi degradációja áll. Mindezek alapján a cardiovascularis rizikó szempontjából a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusát és a fibrinogén koncentrációt mindenképpen együtt kell értékelni.

A CS kifejlődése és az acut coronaria thrombosis két különböző, de az esetek döntő többségében egymással oki összefüggésben lévő esemény. A Leu34 variáns CS-ra és MI-ra gyakorolt hatását igen nehéz különválasztani. Amennyiben a magas fibrinogén szinttel rendelkező CS+MI- betegcsoportot a klinikai kontrollokhoz hasonlítottuk, alacsony OR értéket kaptunk (0,79), azonban a protektív hatás nem bizonyult szignifikánsnak. Amennyiben a CS+ összevont csoportot értékeltük, az OR szignifikánsan alacsonynak bizonyult (OR: 0,46), azonban ebbe a csoportba esik az MI+ betegek nagy többsége. Ha az MI-n átesetteket külön vizsgáltuk, szintén szignifikáns védőhatást (OR: 0,41) észleltünk. Ennek alapján feltételezhetjük, hogy a

Leu34 allél védő hatása elsősorban a coronaria thrombosis kialakulásának a rizikóját csökkenti a magas fibrinogén koncentrációval rendelkező betegekben. Annak eldöntésére, hogy magát az atherosclerosis folyamatát befolyásolja-e a polimorfizmus, további kutatásokra van szükség.

A FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa és a CS/MI közötti összefüggés ellentmondó eredményeinek összefoglaló értékelése céljából elvégeztük az idevonatkozó irodalmi adatok meta-analízisét. A meta-analízisbe bevont tanulmányokban közölt esélyhányados értékek meglehetősen heterogénnek bizonyultak. Az OR értékek 0,31-1,11 között változtak. A tanulmányok alapján nem vonhatunk le következtetést arra vonatkozólag, hogy létezik-e olyan determináns, ami magyarázhatja ezt a heterogenitást. Nyilvánvaló, hogy a polimorfizmus (fentebb már tárgyalt) biokémiai hatása minden populációban azonos, azonban az adott populációra jellemző környezeti faktorok, melyek befolyásolhatják a genotípus által meghatározott tulajdonságot, nagymértékben különböznek. A mediterrán országokból származó negatív közléseket magyarázhatja, hogy ezekben az országokban az ún. környezeti kockázati tényezők előfordulása ritkább, mint Közép-, és Észak-Európában, s a Leu34 allél jelenléte az amúgy is alacsony rizikójú populációkban további védő hatást már nem fejt ki. Másrészt viszont saját tanulmányunk, melyben az egyébként is magas cardiovascularis kockázattal rendelkező magyar populációt vizsgáltuk, szintén negatív eredménnyel zárult, ami ellentétben az előzőekkel a számos rizikótényező ellenében kevésbé hatékony védelemnek köszönhető. Emellett az előbbieken már utaltunk arra, hogy a védőhatás a populáció egy jól meghatározott részében, a magas fibrinogén koncentrációval rendelkező egyéneken, itt is érvényesül.

A fent említett heterogenitás miatt a meta-analízist empirikus Bayes modellel végeztük, ez a hagyományos statisztikai módszerben előforduló torzítást, melyet az extrém eredményeket tartalmazó tanulmányok okoznak, csökkenti. A meta-analízis eredményeként kimondhatjuk, hogy nagy nemzetközi, döntően kaukázusi populációban a Leu34 allél, ill. az allél hordozása szignifikánsan véd a coronaria betegség ellen, bár ennek a védőhatásnak az érvényre jutása környezeti tényezők, esetleg genetikai konstellációk függvénye. Az analízis során felvetődött a publikációs torzítás lehetősége is. Nyilvánvaló, hogy a kisebb tanulmányok eredményei a nagyobb mintavételi hiba miatt a valós érték körül nagyobb szórással helyezkednek el, mint a nagyobb tanulmányok eredményei, ahol a bevont személyek nagy száma

miatt a mintavételi hiba lényegesen kisebb. Ennek ellenére mindössze egyetlen olyan kis tanulmány jelent meg, amelyben a meta-analízisünk eredményeképpen kalkulált értéknél kisebb mértékű védő hatást találtak. Amennyiben a hasonló, negatív eredménnyel záruló kis tanulmányok valóban léteznek és nem kerültek közlésre, a FXIII-A Val34Leu polimorfizmus védő hatásának általunk kalkulált mértéke a valósnál valamivel nagyobb.

A cardiovascularis betegségek és a plazma FXIII szintek közötti összefüggést mindössze néhány tanulmány vizsgálta (50-52). E tanulmányokban azonban a bevezetésben már tárgyalt mikrolemez amin inkorporációs módszerrel végezték az aktivitás meghatározásokat, s a mért eredmények nagy mértékben függenek a FXIII-A Val34Leu genotípustól. Tekintettel arra, hogy e tanulmányokban genotípus függő referencia tartományokkal nem rendelkeztek, továbbá a kontrollok és betegek összehasonlítása nem genotípus szerint történt, csak az antigén meghatározások eredményeivel tudjuk összevetni saját eredményeinket. Az említett tanulmányokban a bevont betegek száma igen alacsony volt. 276, a kaukázusi rasszhoz tartozó egyén vizsgálatakor csak a súlyos CS-ban szenvedő betegek FXIII-A antigén koncentrációját találták emelkedettnek (50). Egy, a saját tanulmányunkhoz hasonló beválasztási kritériumokat alkalmazó közlésben 362 szignifikáns CS-ban szenvedő beteg plazma FXIII antigén szintjét vetették össze 134 normál coronarographiás lelettel rendelkező személyével, a FXIII szintek és a CS között nem találtak összefüggést (34). Néhány, MI-on átesett beteggel foglalkozó tanulmányban nem találtak különbséget az MI+ és MI- személyek között a FXIII szintek tekintetében (50-51), csak egy kis prospektív tanulmányban találtak csökkent FXIII-A antigén szintet 63 MI-on átesett férfi beteg esetében (52). Összességében tehát a kizárólag, vagy döntő többségében férfiakon végzett tanulmányok negatív eredménnyel zárultak. Ez alapvetően jó összhangban van a nemek szerint nem osztályozott, illetve férfi populációban általunk kapott negatív eredménnyel. A fenti tanulmányok a bevont személyek alacsony száma miatt nemek szerint már nem voltak tovább csoportosíthatók. Saját tanulmányunk közel 1000 fő bevonásával azonban lehetővé tette ezt a felosztást. Eredményeink alapján a női populációban a MI előfordulása emelkedett FXIII aktivitás és antigén szintekkel járt, függetlenül a CS jelenlététől, vagy hiányától. Ezek szerint a FXIII szint emelkedés és a MI között nemre specifikus összefüggés mutatható ki.

A férfi populációban a felső harmadba eső FXIII aktivitás és antigén koncentráció nem jelentett szignifikáns kockázat fokozó hatást sem a MI sem a CS vonatkozásában. Ezzel éles ellentétben, a CS+MI+ női populációt a női klinikai kontroll csoporthoz viszonyítva 2,5-3,0-szoros rizikót állapítottunk meg emelkedett FXIII szintek esetén. Az emelkedett FXIII szintek – a férfiakhoz hasonlóan – nőkben sem fokozták a CS kockázatát a MI- személyek esetén, azonban a CS+ nőkben a FXIII emelkedett szintje a MI szignifikáns kockázatköszítő tényezőjének bizonyult. Ezek alapján a FXIII szint emelkedése a MI rizikóját nem az atheroscleroticus plaque növekedésének elősegítése, hanem a thrombotikus történések szintjén befolyásolja. Eredményeink szerint az emelkedett FXIII a MI nemre specifikus kockázati tényezője és vizsgálatát érdemes bevonni a MI kockázatának felmérésébe a női populációban.

A fibrin alvadék kialakulásával párhuzamosan aktiválódó fibrinolitikus rendszer gátlásával, a fibrin promt lebontásának megakadályozásával az emelkedett FXIII fontos szerepet játszhat a coronariákat elzáró thrombus fenntartásában és növekedésében. Annak kiderítése, hogy ez a mechanizmus miért kizárólag nőkben érvényesül, még várat magára. Eredményeink mindenesetre megerősítik azt a feltételezést, mely szerint a coronaria betegség kifejlődésében a véralvadási rendszer nőkben hangsúlyozottabb szerephez jut, mint férfiakban (53).

A korábbiakban már említett methodológiai problémák miatt az irodalom meglehetősen ellentmondásos abban a tekintetben, hogy a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa befolyásolja-e a plazma FXIII aktivitását. Ma már egyértelmű, hogy ha az aktivitás meghatározás első lépéseként a plazmában a trombin teljes mértékben aktiváljuk, nincs különbség az egyes genotípusok FXIII specifikus aktivitásában. Vizsgálatainkban olyan funkcionális tesztet alkalmaztunk, ahol a teljes mértékben aktiválódott FXIII aktivitását detektáltuk, így az eredmények valóban a FXIII katalitikus koncentrációját mutatják és jól korrelálnak a FXIII antigén koncentráció értékekkel. Saját eredményeink azt mutatták, hogy mind a plazma FXIII aktivitása, mind az antigén szint statisztikailag szignifikánsan csökkent a Leu/Leu homozigótákban a CS+ és a MI+ betegcsoportokban. A FXIII aktivitás és antigén koncentráció párhuzamos csökkenése és a specifikus aktivitás identikus volta arra enged következtetni, hogy a Val34Leu polimorfizmus nem magát a FXIII aktivitását befolyásolja (ellentétben a korábbi közlésekkel), hanem alapvetően a FXIII koncentráció csökkenését idézi elő. Arra, hogy ez a genotípus-függés miért csak a coronaria betegekben érvényesül és miért nem jelentkezik egészséges egyénekből,

jelenleg csak feltevéseink vannak. Elképzelhető, hogy a betegekben, különösen a MI+ esetekben, egy folyamatos, vagy alkalmankénti alacsony szintű véralvadás aktiváció történik, mely során limitált mértékben a FXIII is aktiválódik. A Leu34 FXIII gyorsabb aktiválódása és keringésből való kiürülése vezethet a csökkent FXIII szintekhez.

## ÖSSZEFOGLALÁS

A véralvadás XIII-as faktora (FXIII) egy tetramer struktúrájú ( $A_2B_2$ ) protranszglutamináz. A trombin lehasítja a 37 aminosavból álló aktivációs peptidet a FXIII-A-ról, majd  $Ca^{2+}$  jelenlétében a hordozó/gátló FXIII-B disszociál, így kialakítva a hasított és szabaddá váló enzimatikusan aktív FXIII-A-t. A FXIII fő funkciója a normál hemosztázisban a képződő fibrin láncok kovalens keresztbe kötése, valamint a fibrinolízis szabályozásában részt vevő proteinek fibrin hálózathoz kapcsolása. A FXIII-A génje polimorf, a Val34Leu polimorfizmus a legkiterjedtebben tanulmányozott, ugyanis thrombo-protéktív hatását feltételezték.

Adekvát laboratóriumi módszerekkel vizsgáltuk a plazma FXIII szintek összefüggését a CS/MI-sal, az emelkedett FXIII szintek CS/MI-ra jelentett kockázat fokozó hatását, valamint a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusának összefüggését ezen betegségekkel.

A FXIII-A Leu34 allél hordozása, vagy a Leu/Leu homozigótaság önmagában nem bizonyult protektívnek a magyar populációban a CS/MI-sal szemben. Emelkedett fibrinogén szint esetében azonban a Leu34 allél védő hatása MI-sal szemben kimutatható volt. A fibrinogén koncentráció befolyásolja a Leu34 allél hatását, a protektív tulajdonság a fibrinogén szint emelkedésével párhuzamosan fokozódik.

16 tanulmány meta-analízisével igazoltuk, hogy a kaukázusi populációban a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa generálisan protektív hatású a coronaria betegséggel szemben. E hatás érvényesülése azonban környezeti tényezők, esetleg gén-gén kölcsönhatások függvénye.

Az irodalomban elsőként mutattunk rá arra, hogy az emelkedett FXIII szint a MI független kockázati tényezője a nőknél, és ajánlatot tettünk a FXIII szint meghatározás felvételére a nemre specifikus rizikó felmérési profilba. Eredményeink támogatják azt az álláspontot, mely szerint a coronaria betegség kifejlődésében a véralvadási rendszer nőkben hangsúlyozottabb szerephez jut, mint férfiakban.

Kimutattuk, hogy a CS+ és MI+ betegekben a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa befolyásolja a plazma FXIII szinteket. A Leu/Leu MI+ betegek FXIII szintjei szignifikánsan alacsonyabbak voltak a Val/Leu és Val/Val betegekhez viszonyítva. A FXIII specifikus aktivitása független volt a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusától. Valószínű, hogy a MI+ Leu34 homozigóta betegekben a Leu34 FXIII gyorsabb aktiválódása kombinálódik a MI+ betegekben észlelhető kis mértékű, de állandó trombin képződéssel, ennek következtében több aktív FXIII keletkezik, ami a keringésből eliminálódva vezet a csökkent FXIII szintekhez.



## SUMMARY

Blood coagulation factor XIII (FXIII) is a zymogen (protransglutaminase) of tetrameric structure (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>). Thrombin removes an activation peptide of 37 amino acid residues from FXIII-A, then in the presence of Ca<sup>2+</sup> the carrier/inhibitory FXIII-B dissociate and FXIII-A assumes an enzymatically active configuration. The main function of FXIII in normal hemostasis is to cross-link fibrin chains and to attach proteins important in the regulation of fibrinolysis to the fibrin network. Among FXIII-A gene polymorphisms Val34Leu polymorphism is the most well-characterized because of its suspected thrombo-protective effect.

The association between FXIII levels and coronary sclerosis (CS) and myocardial infarction (MI) was investigated using adequate laboratory methods. The effect of elevated FXIII levels and FXIII-A Val34Leu polymorphism on the risk of CS/MI was also examined.

The presence of FXIII-A Leu34 allele or homozygous Leu34 genotype alone did not change the risk of CS/MI in the Hungarian population. However, when patients with elevated fibrinogen level were separately investigated, the Leu34 allele provided a statistically significant protection against MI. Fibrinogen concentration modulates the effect of Leu34 allele on the risk of MI, its protective effect emerges at increasing fibrinogen concentration.

The general protective effect of FXIII-A Leu34 allele against coronary artery disease in the Caucasian population was demonstrated by a meta-analysis of 16 studies. However, it was also indicated that the prevalence of this effect depends on environmental factors and gene-gene interactions.

We first described in the literature that elevated FXIII level was an independent risk factor for MI in females and suggested that FXIII determination is to be included in the gender-specific risk profile.

We demonstrated that in patients with CS and MI FXIII-A Val34Leu polymorphism influences plasma FXIII levels. In MI+ patients homozygous for the Leu34 allele FXIII levels were significantly lower than in heterozygous and wild type patients. The specific activity of FXIII was independent of FXIII-A Val34Leu polymorphism. It is presumed that in MI+ Leu34 homozygous patients faster activation of Leu34 FXIII is combined with a higher extent of low-scale thrombin formation, more FXIIIa is formed which is then eliminated from the circulation resulting in lower FXIII levels.

## IRODALOMJEGYZÉK

1. Muszbek L, Ádány R, Mikkola H. Novel aspects of blood coagulation factor XIII. I. Structure, distribution, activation, and function. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1996;**33**:357-421.
2. Muszbek L, Yee V, Hevessy Z. Blood coagulation factor XIII: structure and function. *Thromb Res* 1999;**94**:271-304.
3. Greenberg CS, Sane DC, Lai T. Factor XIII and fibrin stabilization. In Colman RW, Cloves AW, Goldhaber SZ, Marder VJ, George JN eds. Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins , 2006, pp 317-334.
4. Berezky Z, Katona É, Muszbek L. Fibrin stabilization (factor XIII), fibrin structure and thrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003/2004;**33**:430-7.
5. Muszbek L, Berezky Z, Katona É. Blood coagulation factor XIII: involvement in fibrinolysis and thrombosis In: Arnout J, de Gaetano G, Hoylaerts M, Peerlinck K, Van GeetC, Verhaeghe R, eds. Thrombosis. Fundamental and Clinical Aspects. Leuven, Belgium: Leuven University Press; 2003: 197-224.
6. Mikkola H, Syrjälä M, Rasi V, Vahtera E, Peltonen L, Palotie A. Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels. *Blood* 1994;**84**:517-25.
7. Balogh I, Szőke G, Kárpáti L, Wartiovaara U, Katona É, Komáromi I, Haramura G, Pfliegler G, Mikkola H, Muszbek L. Val34Leu polymorphism of plasma factor XIII: biochemistry and epidemiology in familiar thrombophilia. *Blood* 2000;**96**:2479-86.
8. Kohler HP, Stickland MH, Ossei-Gerning N, Carter A, Mikkola H, Grant P. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1998;**79**:8-13.

9. Wartiovaara U, Perola M, Mikkola H, Totterman K, Savolainen V, Penttila A, et al. Association of FXIII Val34Leu with decreased risk of myocardial infarction in Finnish males. *Atherosclerosis* 1999;**142**:295-300.
10. Elbaz A, Poirier O, Canaple S, Chédru F, Cambien F, Amarenco P. The association between the Val34Leu polymorphism in the factor XIII gene and brain infarction. *Blood* 2000;**95**:586-591.
11. Canavy I, Henry M, Morange PE, Tiret L, Poirier O, Ebagosti A, et al. Genetic polymorphisms and coronary artery disease in the South of France. *Thromb Haemost* 2000;**83**:212-6.
12. Franco RF, Reitsma PH, Lourenco D, Maffei FH, Morelli V, Tavella MH, Araújo AG, Piccinato CE, Zago MA. Factor XIII Val34Leu is a genetic factor involved in the aetiology of venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;**81**:676-679.
13. Kangsadalampai S, Board PG. The Val34Leu polymorphism in the A subunit of coagulation factor XIII contributes to the large normal range in activity and demonstrates that the activation peptide plays a role in catalytic activity. *Blood* 1998;**92**:2766-2770.
14. McCormack LJ, Kain K, CattoAJ, Kohler HP, Stickland MH, Grant PJ. Prevalence of FXIII V34L in population with different cardiovascular risk. *Thromb Haemost* 1998;**80**:523-524.
15. Kohler HP, Futers TS, Grant PJ. Prevalence of three common polymorphisms in the A-subunit gene of factor XIII in patients with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 1999;**81**:511-515.
16. Attie-Castro FA, Zago MA, Lavinha J, Elion J, Rodriguez-Delfin L, Guerreiro JF, Franco RF. Ethnic heterogeneity of the factor XIII Val34Leu polymorphism. *Thromb Haemost* 2000;**84**:601-603.
17. Ariens RAS, Philippou H, Nagaswami C, Weisel JW, Lane DA, Grant PJ. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure. *Blood* 2000;**96**:988-995.
18. Wartiovaara U, Mikkola H, Szóke G, Haramura G, Kérpáti L, Balogh I, Lassila R, Muszbek L, Palotie A. Effect of Val34Leu polymorphism on the activation of the coagulation factor XIII-A. *Thromb Haemost* 2000;**84**:595-600.

19. Kárpáti L, Penke B, Katona É, Balogh I, Vámosi G, Muszbek L. A modified optimized kinetic photometric assay for the determination of blood coagulation factor XIII activity in plasma. *Clin Chem* 2000;**46**:1946-55.
20. Wilmer M, Rudin K, Kolde HJ, Poetzsch B, Lenz W, Moessmer G, Meili E, Egbring R, Gempeler-Messina P, Gempeler M, Bastian S, Kohler HP. Evaluation of a sensitive colorimetric FXIII incorporation assay. Effects of FXIII Val34Leu, plasma fibrinogen concentration and congenital FXIII deficiency. *Thromb Res* 2001;102:81-91.
21. Kohler HP, Ariens RAS, Whitaker P, Grant PJ. A common coding polymorphism in the factor XIII A-subunit gene (FXIIIVal34Leu) affects cross-linking activity. *Thromb Haemost* 1998;80:704.
22. Muszbek L. Deficiency causing mutations and common polymorphisms in the factor XIII-A gene. *Thromb Haemost* 2000;84:524-527.
23. Katona É, Haramura G, Kárpáti L, Fachet J, Muszbek L. A simple quick one-step ELISA assay for the determination of complex plasma factor XIII (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>). *Thromb Haemost* 2000;**83**:268-73.
24. Vaccarino V, Parsons L, Every NR, et al. Sex-based differences in early mortality after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1999;341:217-25.
25. Reina A, Colmenero M, Aguay de Hoyos E, et al. Gender differences in management and outcome of patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2006; DOI:10.1016/j.ijcard.2006.06.007
26. Sramba-Badiale M, Fox KM, Priori SG, et al. Cardiovascular diseases in women: a statement from the policy conference of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2006;27:994-1005.
27. Chen W, Woods SL, Puntillo KA. Gender differences in symptoms associated with acute myocardial infarction: A review of the research. *Heart and Lung* 2005;34:240-7.
28. Vorster HH. Fibrinogen and women's health. *Thromb Res* 1999;95:137-54.
29. Kannel WB, D'Agostino RB, Wilson WF, Belanger AJ, Gagnon DR. Diabetes, fibrinogen and risk of cardiovascular disease: The Framingham experience. *Am Heart J* 1990;120:672-6.

30. Ossei-Gerning N, Wilson IJ, Grant PJ. Sex differences in coagulation and fibrinolysis in subjects with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 1998;**79**:736-40.
31. Franco RF, Pazin-Filho A, Tavella AH, Simões MV, Marin-Neto JA, Zago MA. Factor XIII Val34Leu and the risk of myocardial infarction. *Haematologica* 2000;**85**:67-71.
32. Gemmati D, Serino ML, Ongaro A, Tognazzo S, Moratelli S, Resca R, et al. A common mutation in the gene for coagulation factor XIII-A (Val34Leu): a risk factor for primary intracerebral hemorrhage is protective against atherothrombotic diseases. *Am J Hematol* 2001;**67**:183-8.
33. Kakko S, Elo T, Tapanainen JM, Huikuri HV, Savolainen MJ. Polymorphisms of genes affecting thrombosis and risk of myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 2002;**32**:643-8.
34. Chatterjee T, Schröder V, Windecker S, Meier B, Kohler HP. Venous and intracoronary factor XIII A-subunit antigen and activity levels are not associated with extent of coronary artery disease. *J Thromb Haemost* 2003;**1**:861-3.
35. Hancer VS, Diz-Kucukkaya R, Bilge AK, Ozben B, Oncul A, Ergen G, Nalcaci M. The association between factor XIII Val34Leu polymorphism and early myocardial infarction. *Circ J* 2006;**70**:239-42.
36. Corral J, González-Conejero R, Iniesta JA, Riviera J, Martínez C, Vicente V. The FXIII Val34Leu polymorphism in venous and arterial thromboembolism. *Haematologica* 2000;**85**:293-7.
37. Roldan V, Corral J, Marin F, Rivera J, Pineda J, Gonzalez-Conejero R, et al. Role of factor XIII Val34Leu polymorphism in patients <45 years of age with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2003;**91**:1242-5.
38. Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology Italian Study Group. No evidence of association between prothrombotic gene polymorphisms and the development of acute myocardial infarction at a young age. *Circulation* 2003;**107**:1117-22.
39. Aleksic N, Ahn C, Wang YW, Juneja H, Folsom AR, Boerwinkle E, Wu KK. Factor XIII Val34Leu polymorphism does not predict risk of

- coronary artery disease: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;**22**:348-52.
40. Butt C, Zheng H, Randell E, Robb D, Parfrey P, Xie YG. Combined carrier status of prothrombin 20210A and factor XIII-A Leu34 alleles as a strong risk factor for myocardial infarction: evidence of a gene-gene interaction. *Blood* 2003;**101**:3037-41.
  41. Lim BCB, Ariens RAS, Carter AM, Weisel JW, Grant PJ. Genetic regulation of fibrin structure and function complex gene-environment interactions may modulate vascular risk. *Lancet* 2003;**361**:1424-31.
  42. Mannila, MN, Eriksson P, Ericsson CG, Hamsten A, Silveira A. Epistatic and pleiotropic effects of polymorphisms in the fibrinogen and coagulation factor XIII genes on plasma fibrinogen concentrations, fibrin gel structure and risk of myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2006;**95**:420-7.
  43. Shemirani AH, Muszbek L. Rapid detection of the factor XIII Val34Leu (163G→T) polymorphism by real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer detection and melting curve analysis. *Clin Chem Lab Med* 2004;**42**:877-879.
  44. Reiner AP, Frank MB, Schwarz SM, Linenberger ML, Longstreth WT, Teramura G, Rosendaal FR, Psaty BM, Siscovick DS. Coagulation FXIII polymorphisms and the risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women. *Br J Haematol* 2002;**116**:376-382.
  45. Doggen CJ, Reiner AP, Vos HL, Rosendaal FR. Two factor XIII gene polymorphisms associated with a structural and functional defect and the risk of myocardial infarction in men. *J Thromb Haemost* 2003;**1**:2056-2058.
  46. Reiner AP, Heckbert SR, Vos HL, Ariens RAS, Lemaitre RN, Smith NL, Lumley T, Rea TD, Hindorff LA, Schellenbaum GD, Rosendaal FR, Siscovick DS, Psaty BM. Genetic variants of coagulation factor XIII, postmenopausal estrogen therapy, and risk of nonfatal myocardial infarction. *Blood* 2003;**102**:25-30.
  47. Kobbervig C, Williams E. FXIII polymorphisms, fibrin clot structure and thrombotic risk. *Biophys Chem* 2004;**112**:223-228.

48. Kohler HP, Mansfield MW, Clark PS, Grant PJ. Interaction between insulin resistance and factor XIII Val34Leu in patients with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 1999;**82**:1202-1203.
49. Collet JP, Park D, Lesty C, Soria J, Soria C, Montalescot G, Weisel JW. Influence of fibrin network conformation and fibrin fiber diameter on fibrinolysis speed. Dynamic and structural approaches by confocal microscopy *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;**20**:1354-1361.
50. Kohler HP, Ariens RAS, Mansfield MW, Whitaker P, Grant PJ. Factor XIII activity and antigen levels in patients with coronary artery disease *Thromb Haemost* 2001;**85**:569-570.
51. Warner D, Mansfield MW, Grant PJ. Coagulation factor XIII and cardiovascular disease in the UK Asian patients undergoing coronary angiography *Thromb Haemost* 2001;**85**:408-411.
52. Kohler HP, Ariens RA, Catto AJ, Carter AM, Miller GJ, Cooper JA, Mansfield MW, Standeven KF, Grant PJ. Factor XIII A-subunit concentration predicts outcome in stroke subjects and vascular outcome in healthy middle-age men *Br J Haematol* 2002;**118**:825-832.
53. Kalaria VG, Zareba W, Moss AJ, Pancio G, Marder VJ, Morrissey JH, Weiss HJ, Sparks CE, Greenberg H, Dwyer E, Goldstein R, Watelet LF. Gender-related differences in thrombogenic factors predicting recurrent cardiac events in patients after acute myocardial infarction *Am J Cardiol* 2000;**85**:1401-1408.

## **AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK ÉS KÖNYVFEJEZET**

Muszbek L, **Bereczky Z**, Katona É: Blood coagulation factor XIII: involvement in fibrinolysis and thrombosis

In: Arnout J, de Gaetano G, Hoylaerts M, Peerlinck K, Van Geet C, Verhaeghe R, eds. Thrombosis. Fundamental and Clinical Aspects. Leuven, Belgium: Leuven University Press; 2003: 197-224.

**Bereczky Z**, Katona É, Muszbek L: Fibrin stabilization (Factor XIII), fibrin structure and thrombosis

Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis 2003/2004; 33: 430-437.

**Impakt faktor: 0,799**

**Bereczky Z**, Balogh E, Katona É, Czuriga I, Édes I, Muszbek L: Elevated factor XIII level and the risk of myocardial infarction in women

Haematologica 2007; 92: 287-288.

**Impakt faktor: 4,575**

**Bereczky Z**, Balogh E, Katona É, Pocsai Z, Czuriga I, Széles G, Kárpáti L, Ádány R, Édes I, Muszbek L: Modulation of the risk of coronary sclerosis/myocardial infarction by the interaction between factor XIII subunit A Val34Leu polymorphism and fibrinogen concentration in the high risk Hungarian population.

Thrombosis Research 2007; doi: 10.1016/j.thromres.2006.12.013

**Impakt faktor: 2,012**

Vokó Z, **Bereczky Z**, Katona É, Ádány R, Muszbek L: Factor XIII Val34Leu variant protects against coronary artery disease. A meta-analysis.

Thrombosis Haemostasis 2007; 97: 458-463.

**Impakt faktor: 3,056**



**Bereczky Z**, Balogh E, Katona É, Czuriga I, Kárpáti L, Édes I, Muszbek L: The effect of coronary artery disease on factor XIII levels in patients with different Factor XIII-A subunit Val34Leu genotype  
Thrombosis Research (under revision)

**Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: 10,442**

### **AZ ÉRTEKEZÉSHEZ NEM SZOROSAN KAPCSOLÓDÓ NEMZETKÖZI FOLYÓIRATBAN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK**

Szűk T, Nagy B, **Bereczky Z**, Kőszegi Z, Édes I, Kappelmayer J: Effects of ad hoc clopidogrel loading versus pre-treatment on P-selectin expression after coronary stent implantation.  
Platelets 2006; 17: 344-346.

**Impakt faktor: 1,451**

Schlamadinger Á, Vanhoorelbeke K, László P, **Bereczky Z**, Muszbek L, Deckmyn H, Boda Z: Von Willebrand factor antigen latex immunoassays are affected to a different extent by rheumatoid factor.  
Clinical and Applied in Thrombosis/Hemostasis 2006; 12: 242-243.

**Impakt faktor: 1,183**

Nagy V, Steiber Z, Takács L, Vereb G, Berta A, **Bereczky Z**, Pfliegler G: Thrombophilic screening for nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy.  
Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2006; 244: 3-8.

**Impakt faktor: 1,498**

Losonczy G, Rosenberg N, Boda Z, Vereb G, Kappelmayer J, Hauschner H, **Bereczky Z**, Muszbek L: Three novel mutations in the glycoprotein IIb gene in a patient with type II Glanzmann thrombasthenia  
Haematologica 2007 (accepted)

**Impakt faktor: 4,575**

**Bereczky Z**, Komáromi I, Bárdos H, Kiss C, Balogh I, Haramura G, Ajzner É, Ádány R, Muszbek L: Factor X<sub>Debrecen</sub>: Gly204Arg mutation in factor X causes the synthesis of a non-secretable protein and severe factor X deficiency  
J Thromb Haemost 2007 (submitted)

**Összes impakt faktor: 19,149**

## **AZ ÉRTEKEZÉSHEZ NEM SZOROSAN KAPCSOLÓDÓ HAZAI FOLYÓIRATBAN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK**

Szőke G, Balogh I, **Bereczky Zs**, Muszbek L: Homocisztein anyagcsere laboratóriumi vizsgálata és klinikai jelentősége a thrombosis hajlam megítélése szempontjából I. Homocisztein metabolizmus és a plazma homocisztein szintjének a meghatározása.

Klinikai és Kísérletes Laboratóriumi Medicina 1999; 26: 8-14.

**Bereczky Zs**, Szőke G, Balogh I, Muszbek L: Homocisztein anyagcsere laboratóriumi vizsgálata és klinikai jelentősége a thrombosis hajlam megítélése szempontjából II. Öröklött és szerzett hyperhomocysteinaemiák.

Klinikai és Kísérletes Laboratóriumi Medicina 1999; 26: 54-63.

Kárpáti I, Balla J, Szőke G, **Bereczky Zs**, Páll D, Ben T, Toma K, Katona E, Mohácsi A, Paragh Gy, Varga Zs, Kakuk Gy, Muszbek L: A hyperhomocysteinaemia gyakorisága folsavpótlásban részesülő hemodializált betegekből.

Orvosi Hetilap 2002; 143: 1635-1640.

Oláh L, Csépany T, **Bereczky Z**, Kerényi A, Mész M, Kappelmayer J, Csiba L: Activity of natural coagulation inhibitor proteins in the acute phase of ischaemic stroke

Ideggyógyászati Szemle 2005; 58: 33-39.

Balogh E, Czuriga I, **Bereczky Zs**, Boda K, Kőszegi Zs, Kónya C, Császár A, Muszbek L, Édes I, Ferdinándy P: Increase of homocysteine in cardiovascular diseases in Hungary

Orvosi Hetilap 2006; 3147: 1685-90.

## **TÁRGYSZAVAK**

Faktor XIII

Faktor XIII aktivitás

Faktor XIII antigén

FXIII-A Val34Leu polimorfizmus

Coronaria sclerosis

Myocardialis infarctus

Meta-analízis

Fibrinogén

Nők

## **KEY WORDS**

Factor XIII

Factor XIII activity

Factor XIII antigen

FXIII-A Val34Leu polymorphism

Coronary sclerosis

Myocardial infarction

Meta-analysis

Fibrinogen

Females

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Muszbek László akadémikusnak, hogy biztosította számomra a kutatásokhoz szükséges feltételeket, értékes tanácsaival irányította munkámat és mind szakmailag, mind erkölcsileg támogatott.

Köszönöm Dr. Édes István professzor úrnak és Dr. Czuriga István főorvos úrnak, hogy hozzájárultak ahhoz, hogy a kutatásokhoz Kardiológia Intézet betegeinek vérmintáit felhasználhassam.

Köszönettel tartozom Dr. Balogh Emíliának a betegadatok összegyűjtésében nyújtott értékes segítségéért.

Köszönöm Dr. Katona Évának a FXIII antigén meghatározások elvégzését és a statisztikai elemzésben nyújtott segítségét.

Köszönöm Dr. Kárpáti Leventének a FXIII aktivitás meghatározásokban nyújtott segítségét.

Köszönöm Dr. Ádány Róza professzor asszonynak a támogatását, és azt, hogy hozzájárulását adta a populációs kontroll személyektől munkatársai által gyűjtött DNS minták felhasználásához.

Köszönettel tartozom Dr. Vokó Zoltánnak a meta-analízis elvégzéséért.

A Klinikai Kutató Központ és a Klinikai Biokémiai és Molekuláris Patológiai Intézet minden dolgozójának köszönöm a munkámban nyújtott segítségüket.

Külön köszönettel tartozom családomnak támogatásukért.

## FÜGGELÉK

### **RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE**

FXIII: XIII-as véralvadási faktor

FXIIIa: aktivált FXIII

FXIII-A: FXIII A alegység

FXIII-B: FXIII B alegység

CS: coronaria sclerosis

MI: myocardialis infarctus

OR: Odds ratio, esélyhányados

CI: konfidencia intervallum