

EGYETEMI DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Takáts Alajos Tamás

**Protrombotikus faktorok szerepének vizsgálata
primer Raynaud-szindrómában**

DEBRECENI EGYETEM

Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskola

Debrecen, 2016

EGYETEMI DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

Protrombotikus faktorok szerepének vizsgálata primer Raynaud-szindrómában

Dr. Takáts Alajos Tamás

Témavezető: Dr. Csiki Zoltán



DEBRECENI EGYETEM

Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskola

Debrecen, 2016

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés.....	6
2. Irodalmi áttekintés	7
2.1. A Raynaud-jelenség.....	7
2.2. A Raynaud-szindróma klinikuma.....	8
2.3. Előfordulás és gyakoriság	10
2.4. Diagnosztika.....	11
2.5. Pathogenezis, pathofiziológia	14
2.5.1. Az érfal funkcionális és strukturális elváltozásai.....	15
2.5.2. Neurogén zavarok	17
2.5.3. Intravasculáris tényezők – thrombocyták, protrombotikus faktorok ...	18
2.6. A migrén	21
2.7. Célkitűzések	23
2.7.1. Thrombocyta vizsgálatok primer Raynaud-szindrómában	23
2.7.2. Von Willebrand faktor és plazma fibrinogén vizsgálatok	24
2.7.3. Protrombotikus polimorfizmus vizsgálatok.....	25
4. Betegek és módszerek.....	26
4.1. Betegek.....	26
4.2. Általános laboratóriumi vizsgálatok	27
4.3. Autoantitestek kimutatása	27
4.4. Áramlási citometriás vizsgálat	28
4.5. A von Willebrand faktor és fibrinogén szintek meghatározása.....	28
4.6. Genetikai polimorfizmus vizsgálatok	28
4.7. Statisztikai módszerek.....	29
5. Eredmények	30
5.1. Thrombocyta vizsgálatok eredményei	30
5.1.1. Thrombocyta szám és átlagos térfogat.....	31
5.1.2. CD62P expresszió vizsgálata	31
5.1.3. Klinikai adatok és laboratóriumi eredmények közötti összefüggések..	31
5.2. Von Willebrand faktor és plazma fibrinogén vizsgálatok eredményei.....	34

5.2.1. A nemi megoszlás és a vizsgálati eredmények közötti összefüggések	35
5.3. Protrombotikus polimorfizmus vizsgálatok eredményei	36
5.3.1. Genetikai polimorfizmusok prevalenciája	36
6. Megbeszélés	39
6.1. Thrombocyta vizsgálatok primer Raynaud-szindrómában	39
6.2. Von Willebrand faktor és plazma fibrinogén vizsgálatok	41
6.3. Protrombotikus polimorfizmus vizsgálatok	42
7. Összefoglalás/Summary	44
8. Irodalomjegyzék	46
8.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke	46
9. Tárgyszavak/keywords	56
10. Köszönetnyilvánítás	57
11. Függelék	58

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ANA	antinukleáris antitest
ANF	antinukleáris faktor
BMI	testtömegindex
CCL5	kemokin (C-C) ligand 5
CGRP	calcitonin-génfüggő peptid
CI	konfidencia intervallum
CRP	C-reaktív protein
DNS	dezoxiribonukleinsav
EGF	epidermális növekedési faktor
ELISA	enzim-kapcsolt immunosorbent assay
ENA	extrahálható nukleáris antigén
ENA-78	epitheliális neutrophil aktiváló peptid-78
FITC	fluoreszcein izotiocianát
HGF	hepatocyta növekedési faktor
IL	interleukin
MCTD	kevert kötőszöveti betegség (mixed connective tissue disease)
MPV	átlagos vérlemezke térfogat (mean platelet volume)
MTHFR	metiléntetrahidrofolát-reduktáz
NK	természetes ölősejt (natural killer)
OR	esélyhányados (odds ratio)
PDGF	vérlemezke-eredetű növekedési faktor
PBS	foszfát puffer
PCR	polimeráz-láncreakció
PE	fikoeritrin
PF-4	vérlemezke faktor 4
RA	rheumatoid arthritis
RP	Raynaud-jelenség (Raynaud's phenomenon)
RS	Raynaud-szindróma
SD	standard deviáció/szórás

SLE	szisztémás lupus erythematosus
SS	Sjögren-szindróma
SSc	szisztémás sclerosis
Tc	cytotoxikus T sejt
TGF	transzformáló növekedési faktor
VEGF	vascularis endotheliális növekedési faktor
vWF	von Willebrand faktor

1. BEVEZETÉS

Az ujjak hideg hatására való elszíneződéséről, illetve a jelenség hátterében húzódó feltételezett folyamatokról íródott első tudományos értekezés Maurice Raynaud (1834-1881) nevéhez kötődik. A Párizsban végzett francia orvos doktori disszertációját „Lokális asphyxia és a végtagok szimmetrikus gangrénája” címmel 1862-ben védte meg, dolgozatában feltételezve, hogy az ujjartériák paroxizmális szűkületeért a zavart lokális idegi reflex tehető felelőssé. Az azóta eltelt több mint 150 év alatt a kéz és lábujjak keringéselettanának – kórélettanának, ezáltal a Raynaud-szindróma kialakulási mechanizmusának is számos aspektusa tisztázódott. Azonban mindezek egyúttal újabb megválaszolatlan kérdéseket nyitnak meg, melyek további kutatásokat tesznek szükségessé.

Az elmúlt évtizedek intenzív vizsgálatainak következtében az érrendszer fiziológiás és kóros működésére vonatkozó ismereteink robbanásszerűen növekedtek. A humán vasculatura komplex rendszere magába foglalja többek között az erek falát alkotó endothel sejteknek, a vér alakos elemeinek, valamint a neurogén és nem-neurogén szabályozó mechanizmusnak a dinamikus változását és kölcsönhatását. A keringési rendszer működésének és funkcionális zavarainak jobb megértéséhez a Raynaud-szindróma vizsgálata ideális eszközként szolgál, látványos klinikai megjelenésének és magas prevalenciájának következtében.

A Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézetének Klinikai Immunológiai Tanszéke Dr. Zeher Margit professzornő irányítása alatt hazánk egyik legnagyobb immunológiai centrumaként több mint ezer autoimmun beteget gondoz. Dr. Csiki Zoltán Raynaud-szakrendelése európai viszonylatban is egyedülállóan nagyszámú, közel félezer primer Raynaud-szindrómás beteg ellátását és nyomon követését végzi, mely ideális lehetőséget teremt a betegség klinikai és laboratóriumi vizsgálata számára.

Kutatásaim fókuszában a primer Raynaud-szindrómában megnyilvánuló vasculáris eltérések és potenciálisan megváltozott protrombotikus folyamatok álltak. Jelen dolgozatomban az elmúlt évek során nyert, nemzetközi folyóiratokban publikált kutatási eredményeimet összegzem a témában.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A Raynaud-jelenség

A Raynaud-jelenség (RP – Raynaud’s phenomenon) egy viszonylag gyakori tünet, mely alatt az akrális területek hideghatásra, vagy érzelmi stresszre fellépő fokozott vascularis reakcióját és a csökkent vérátáramlás következtében kialakuló elszíneződését értjük. A Raynaud-szindróma (RS) kifejezés a jelenség háttérében álló kórállapotot jelöli. Az RP teljes klinikai tünetcsoportja az ujjak három egymást követő jellegzetes színváltozásából áll:

1. A kezdeti *fehér/ischaemiás fázis* a kifejezett érszűkület és az érzéketlen, hideg, zsibbadt, dermedt ujjak jellemzik.
2. A *kék/asphyxiás fázis* legalább öt perc keringésmegállást követően fejlődik ki az érintett területek cianózisával és fájdalmával kísérvé.
3. A *vörös/hyperaemiás fázis* zárja a Raynaud-jelenséget, a reperfúzió során kialakuló poszt-okkluzív reaktív hyperaemia általában erős fájdalommal, zsibbadással és érzékszavarral társul.

Az esetek többségében az RP enyhébb, ún. inkomplett formája fejlődik ki, mely során tipikusan csak az ischaemiás és a hyperaemiás fázis jelentkezik, míg az asphyxia fázisát a jelenség súlyosabb formáiban írják le [1] (1. Ábra). A roham általában percekig tart, de egyes esetekben akár órákig is fennállhat, átlagos időtartama 20-25 perc. A tünetek jelentkezésekor kezdetben általában csupán néhány ujj érintett, azonban a kórfolyamat előrehaladtával később az összes ujjra kiterjedhet a jelenség. A lábujjak, a nyelv, az orr, a fülcimpák vagy a mellbimbók érintettsége kevésbé gyakori [2].



1. Ábra. Primer Raynaud szindrómás beteg kézfelvetele: bal oldalon asphyxia fázisa, jobb oldalon hyperaemia fázisa (Dr. Csiki Zoltán anyagából)

2.2. A Raynaud-szindróma klinikuma

Terápiás és prognosztikai célból meg kell különböztetni a kórkép *primer* és *szekunder* formáját. A primer Raynaud-szindróma etiológiája ismeretlen, kifejlődésének háttérében egyéb betegség nem mutatható ki. Az ujjak rendszerint szimmetrikusan érintettek, és pathomechanizmusát tekintve, a tisztán vasospasticus roham háttérében, illetve következményeként sem figyelhető meg a digitális artériák strukturális károsodása. A jelenség szisztémás jellegére utal a migrén, retinopathia és Prinzmetal angina gyakori társulása. A perifériás artériákon kívül a tüdő, agy, retina és a gastrointestinalis traktus is érintett lehet [3].

Számos kórformának lehet egyik jellegzetes tünete a Raynaud-jelenség. A digitális artériák organikus elváltozásaival járó szekunder RS immunológiai betegségekhez [pl. szisztémás sclerosis (SSc), szisztémás lupus erythematosus (SLE)] társul leggyakrabban, de haematológiai vagy malignus betegségekben, cukorbetegségben, carpal tunnel szindrómában, vagy thoracic outlet szindrómában is megjelenhet [4-6]. Különböző gyógyszerek (béta-blokkolók, amfetaminok, ergotamin, bleomycin, vinblastin, ciclosporin) hatására is kialakulhat RP. Idősebb betegeknél az elzáródásos érbetegség számít a leggyakoribb kiváltó oknak. Mindezeket túlmenően

munkahelyi ártalmak (vibráció, polivinilklorid) is okozhatnak Raynaud-jelenséget [7,8] (I. Táblázat).

Immunológiai betegségek	Mechanikai ártalmak
szisztémás sclerosis (SSc)	vibráció
szisztémás lupus erythematosus (SLE)	thoracic outlet szindróma
dermatomyositis vagy polymyositis	fagyás
Sjögren-szindróma (SS)	a nagy erek ismételt traumája
kevert kötőszöveti betegség (MCTD)	Malignus betegségek
rheumatoid arthritis (RA)	petefészekrák
Takayasu arteritis	lymphoma
óriássejtes arteritis	Infekciók
thromboangiitis obliterans (Buerger-kór)	Parvovírus B19
primer biliaris cirrhosis	Helicobacter pylori
Az artériák betegsége	Haematológiai betegségek
atherosclerosis	cryoglobulinok
microembolizáció	cryofibrinogenemia
Kémiai anyagok, gyógyszerek	hideg agglutininek
bleomycin, vinblastin	paraproteinemia
poli(vinil-klorid)	polycythaemia
béta-blokkolók	Endokrin eltérések
ergot alkaloidok	carcinoid szindróma
methysergid	pheochromocytoma
interferon alfa, béta	hypothyreosis

I. Táblázat. Szekunder Raynaud-szindróma okai [1].

Nem egyszer előfordul, hogy a háttérben álló alapbetegség egyetlen klinikai tüneteként éveken át csupán Raynaud-szindróma észlelhető. Ilyenkor a primer formától való elkülönítés kifejezett diagnosztikai nehézséget jelent, melyhez a beteg részletes kivizsgálása és folyamatos nyomon követése elengedhetetlenül szükséges. LeRoy és Medsger [9] által ajánlott primer Raynaud-szindróma kritériumokat a II. Táblázat foglalja össze.

LeRoy és Medsger által ajánlott módosított kritériumok

az ujjak elfehéredésének vagy elkékekülésének epizodikus rohama hosszabb ideje fennáll

perifériás vascularis betegség hiánya

az ujjak ulcerációjának, gangrénájának hiánya

normál kapillármikroszkópiás kép

negatív antinukleáris antitest (ANA) teszt

vörösvértest süllyedés normális

jól tapintható szimmetrikus perifériás pulzusok

II. Táblázat. LeRoy és Medsger által ajánlott módosított kritériumok [9]

Bár számos vizsgálattal közelebb kerülhetünk a Raynaud-szindróma elsődleges és másodlagos jellegének elkülönítéséhez, azonban jelenleg nem rendelkezünk olyan diagnosztikai eszközzel, mely által az esetleges később kifejlődő alapbetegség rizikóját és típusát minden kétséget kizáróan megjósolhatnánk.

2.3. Előfordulás és gyakoriság

Mivel nem minden érintett fordul panaszaival egészségügyi intézményhez, a Raynaud-szindróma valódi előfordulási aránya nem ismert, gyakoriságát 5-20%-ra becsülik az európai felnőtt lakosságban. A Raynaud-szindróma nőkben négyszer gyakoribb, mint a férfiakban. A primer Raynaud-szindróma esetében az általános

népességből vett nagy mintákon végzett újabb vizsgálatok szerint nőknél a prevalencia 5%-os, a férfiaknál 3%-os [2,10]. A hormonális tényezők szerepét támasztja alá az a megfigyelés, hogy a primer RS kétszer gyakoribb fiatal nőkben és ujjuk vérátáramlása alacsonyabb, mint az azonos korú egészséges férfiaké, de ez a különbség a két nem között menopausa után eltűnik, ahogy a menopauzát követően a primer RS tünetei is megszűnhetnek [11].

A szekunder Raynaud-szindróma az alapbetegségektől függően minden életkorban előfordul, bár gyakoribb az idősebb kori kezdet. A társult betegségek előfordulási gyakorisága is emelkedik a korrallal. A Raynaud-jelenség a szisztémás sclerosis leggyakoribb (90-95 %-os prevalencia) és általában kezdeti tünete, mely évekkel megelőzheti a betegség egyéb tüneteit [12]. SLE-ben és Sjögren-szindrómában a betegek átlagosan 35-39%-ánál írták le a Raynaud-szindrómás tünetek kifejlődését [13].

2.4. Diagnosztika

A panaszok általában fiatal nőbetegeket érintenek. Az első rohamnak előrehaladott életkorban való jelentkezése az esetek döntő többségében valamilyen alapbetegség meglétére utal. Primer RS-ban a társuló hidegérzékenység mellett ischaemiás rohamok alakulnak ki, melyek rendszerint szimmetrikusan jelentkeznek, a 2.-5. ujjakon kialakuló sápadtság (asphyxia), elkékülés (cyanosis), fájdalmas kivörösödés (hyperaemia) sorrendben követik egymást, míg a hüvelykujjak általában megkíméltek. Szekunder betegségben a roham gyakran nem szimmetrikus, alkalmanként csak egy-egy ujj érintett. A vasospasmus az arteriolák és venulák konstrikcijához vezet, ez okozza az ujjak tövéig terjedő asphyxia kialakulását. A cyanosis kialakulásáért valószínűleg a venulák bénulása felelős. A spasmus oldódásával vasodilatatív hatású faktorok szabadulnak fel, mely bőrpírral járó hyperaemiát okoz. Amikor az ujjartériákban strukturális eltérés, illetve elzáródás alakul ki, a reaktív hyperaemia fázisa elmarad. Ilyenkor a lokálisan metabolikusan indukált spasmolysis (görcsoldás) csak ritkán képes kompenzálni a szervi fixált stenosis okozta áramlási zavart. Anamnézis felvételkor hangsúlyt kell helyezni a roham oldódási körülményeinek

tisztázására. Fontos a beteg szakmájának, de a hobbijainak a tisztázása is. A vibrációs szindróma súlyossági fokának osztályozását klinikai tünettanon alapuló stádiumokban végzik [14]. Míg primer RS-ban trofikus zavarokat sohasem látunk, a szekunder formában – főleg thromboangiitis obliterans, SSc esetén – nagy a veszélye akrális léziók kialakulásának, különösen az ujjbegyeken [15].

A klinikai vizsgálat során főleg a hőmérséklet-különbségekre és a lokális trofikus zavarokra kell figyelni. Az ökölképzési teszttel főleg az egyes ujjak izolált érintettségéről kaphatunk információt. A típusos lelet esetén foltszerű reaktív hiperémia látható a kéz belső felszínén [16]. Az ökölképzési teszt alkalmas arra, hogy az arteria radialis vagy ulnaris izolált kompressziójával megbízható információkat szerezzünk ezen erek átjárhatóságáról. Főleg az anamnézisre kell támaszkodnunk a betegség diagnosztikája során. Hidegprovokációs teszt elvégzése lehetséges az ujjak és kezek 3 perces jéghideg vízbe történő merítésével. Ilyenkor gyakran látható az ujjak vérátfolyásának csökkenése, bár típusos roham kialakulását ritkán figyelhetjük meg [17].

Kapillármikroszkópia: A körömrődő kapillárisainak vizsgálata fontos szerepet játszik a RS diagnosztikájában. Főleg az SSc diagnózisa alapul különböző morfológiai kritériumokon: - óriáskapillárisok, - avascularis területek, - bevérzések. A „primer”-nek tekintett RS betegek 12%-ában ezek az elváltozások már láthatóak akkor, amikor az SSc-re utaló klinikai jelek még nem észlelhetők. Ezt a képet azonban nem csak a klasszikus SSc-ben, hanem egyéb betegségekben is láthatjuk, melyeket Maricq „scleroderma spektrum betegségek”-nek nevezett el [18]. Idetartoznak az SSc mellett a „pre-sclerodermás Raynaud betegség”, a kevert kötőszöveti betegség és a dermatopolymyositis. A jellemző kapilláris képet („scleroderma pattern”) típusosnak, de kevésbé specifikusnak tekinthetjük SSc-ben [19]. A kapillármikroszkópos vizsgálat során látható morfológiai elváltozásokat hagyományosan két típusra osztották, a kiterjedt és összefüggő avascularis területeket érújdonképződéssel az alapbetegség aktivitását és progresszióját jelezte, ezzel szemben a kifejezett óriáskapillárisok kialakulása a kismértékű kapillárisvesztés mellett az alacsony aktivitású betegségre tartották jellemzőnek [20]. Az avascularis területek megjelenése inkább egy dinamikus folyamat részjelensége mintsem egy érsérülés végstádiuma. „Aktív pattern”-es betegeknél többféle antinukleáris antitest (kivéve az anti-centromer antitestek) is

előfordulhat, ugyanakkor anti-centromer antitesteket csak „slow pattern”-el rendelkezőknél találtak. Ebből következően, sok óriáskapilláris és kevés avascularis területtel jelentkező kapilláris képet a CREST (a szisztémás sclerosis enyhébb formája) szindrómához társították [21].

A legújabban alkalmazott nemzetközi beosztás a korábbival ellentétben a kapillármikroszkópos elváltozásokat három típusra különít el, melyek összefüggést mutatnak a betegség progressziójával, ezáltal növelve a kapillármikroszkópos vizsgálat diagnosztikai és prognosztikai jelentőségét. Az ún. „early pattern” esetében kevés dilatált vagy óriáskapilláris látható még kapillárisvesztés nélkül, az „active pattern” sűrűbben elhelyezkedő dilatált vagy óriáskapillárisokkal, illetve közepes mértékű kapillárisvesztéssel és bevérzésekkel jár, míg a „late pattern”-re már a súlyos kapillárisvesztés és kiterjedt avascularis területek jellemzőek [22]. A korai diagnózis és az időben megkezdett kezelés biztosításához a háttérben zajló autoimmun betegség felismerésének lehetőleg már az „early pattern” fázisban meg kell történnie.

SLE-ben is típusos kapillármikroszkópiás képet láthatunk: hurokszerű és ún. „bushy” „csomó” alakú kapillárisokat, mely formák néha RP tüneteit nem mutató SLE-s betegeknél is előfordulnak [23]. RP rohamaiban szenvedő betegekre jellemző általában a kapilláris átmérő növekedése [13].

A Raynaud-szindróma standard kivizsgálásának a részét képezik a szerológiai vizsgálatok [24]. A szükséges vizsgálatokat az III. Táblázat részletezi.

Raynaud-szindrómában elvégzendő szerológiai vizsgálatok

We, C-reaktív protein (CRP)

vérkép, hematokrit

keringő immunkomplex

cryoglobulinok

immunelektroforézis

antinukleáris faktor (ANF), autoantitestek

rheumatoid faktor

hideg agglutininek

III. Táblázat. Raynaud-szindrómában elvégzendő szerológiai vizsgálatok

A gyakorlatban a részletes anamnézis és az alapos klinikai vizsgálat az elsődleges. Laborvizsgálatokként a „bázislabor” elvégzése szükséges (We, vérkép, hematokrit és thrombocyta szám, antinukleáris antitestek, cryoglobulinok, keringő immunkomplexek [25]. A megfontolandó problémák jelenleg három kérdés köré összpontosulnak: a Raynaud jelenség specifikus klinikai jellegzetességei, a betegség progressziójának és prognózisának megítélése, valamint lehetséges terápiája. Különösen lényeges a másodlagos betegségekre utaló jelek mielőbbi felismerése. Jelenleg a klinikai gyakorlatban a részletes anamnézis, fizikális vizsgálat, labortesztek, valamint a kapilláris mikroszkópos eltérések megítélése segít a diagnózis felállításában és a betegek követésében.

2.5. Pathogenezis, pathofiziológia

Az ujjak, illetve egyéb akrális területek artériáinak, prekapilláris arterioláinak, illetve a bőr arteriovenosus anastomosisainak vasoconstrictiója a szervezet thermoregulációjának fontos elemét képezi környezeti hideghatás esetén. Raynaud-

szindróma esetén hideg- és stresszhatásra túlzott mértékű vasculáris válaszreakció figyelhető meg, következményesen csökkent vérátáramlással az érintett területeken. A mikrokeringés szintjén a véráramlás kritikusan függ az endothelium integritásától, az értónus megfelelő szabályozásától, illetve a vérplazma és a vér alakos elemeinek sajátosságaitól. Alapvető szempont a primer és szekunder Raynaud-szindróma megkülönböztetése, mivel a másodlagos kórformákban az alapbetegségtől függően eltérő a Raynaud-jelenség kórélettana. A primer Raynaud-jelenség kialakulásának hátterében a vasculáris endotheliális eltérések, a vasculáris simaizom tónus autonóm szabályozásának zavara és a megváltozott intravasculáris faktorok komplex kölcsönhatása játszik szerepet.

2.5.1. Az érfal funkcionális és strukturális elváltozásai

Az endothelium, a fizikai barrier szerepén túlmenően, a számos fontos cytokin és faktor termelése és felszabadítása által kiemelkedő funkciót tölt be a keringés szabályozásában. Az endothelfüggő folyamatok egyensúlyának megbomlása, a vasoconstrictor hatású mediátorok (pl. endothelin-1, tromboxan A₂) túltermelődése, illetve a vasodilatátor hatású faktorok (NO, prostacyclin) csökkent jelenléte kulcsszerepet játszhat a Raynaud-jelenség kifejlődésében [26]. Az endothelin-1, amellett hogy kifejezetten erős vasoconstrictor hatással bír, szerepet játszik a vasculáris remodelling folyamatokban és pro-fibrotikus aktivitással is bír [27], mely az SSc-ben megnyilvánuló fokozott fibrotikus folyamatokban is különösen releváns lehet. Habár számos munkacsoport tanulmányozta a vasoaktív hatással rendelkező faktorok szintjének változását Raynaud-szindrómában, többségük egymással eltérő eredményekről számolt be, így továbbra sincsenek egyértelmű bizonyítékok a pathogenezisben betöltött kulcsszerepükre. Zamora és munkatársai az egészséges kontrollokhoz képest emelkedett endothelin-1 szinteket mértek primer RS-ban, mely hideg provokációra további szignifikáns növekedést mutatott [28]. Egy másik tanulmány viszont a kontrollnak megfelelő endothelin-1 szintet mért primer RS-ban, azonban hideg expozícióra ők is szignifikáns emelkedést tapasztaltak a betegek esetében [29]. Velük szemben Smythe és mtsai mind nyugalomban, mind hideghatást

követően az egészséges kontrolloknak megfelelő endothelin-1 szinteket mutatták ki primer RS-ben [30].

A primer formára jellemző tisztán funkcionális eltérésekkel szemben, a szekunder, autoimmun betegségekhez társult formák esetén a kórfolyamat előrehaladtával az endothel által fokozottan termelt vasoconstrictor faktorok, illetve az alapbetegség függvényében megváltozott gyulladásos folyamatok és cytokin miliő az ujjak érfalának strukturális sérüléséhez vezetnek. A kórfolyamat egyik legelső lépését az endothelialis lézió kialakulása képezi, mely az endothel sejtek vacuolás degenerációjával és a bazális membrán sérülésével jár. Ennek hátterében az endothel sejtek elleni autoantitestek termelődése, illetve az endothelfüggő folyamatok egyensúlyának megbomlása, a vasoconstrictor hatású faktorok túltermelődése (endothelin-1, tromboxan A₂) és a vasodilatator mediátorok (nitrogén-oxid, prostacyclin) csökkent jelenléte állhat [31]. Az ehhez társuló immunológiai működési zavarok, pl. az NK és cytotoxikus T (T_c) sejtek szerin proteáz termelése, és az immunaktivációs folyamatok következtében megváltozott cytokin miliő az érfal strukturális károsodásához, a tunica intima és media hipertrófiájához, majd az adventitia fibrózisához vezetnek [32]. Az egyre súlyosbodó keringési zavar hypoxiás állapotot idézhet elő az érintett szövetekben, mely reaktív oxigéngyökök képződéséhez és további növekedési faktor felszabaduláshoz, illetve a fibroblasztok aktivációjához vezethet. Ezek a folyamatok az ér lumenének progresszív szűkületét, később elzáródását és következményes szövet- és szervkárosodásokat okozhatnak.

Strukturális érfalkárosodások jellemzik a trauma által kiváltott RS-t is. Krónikus vibrációs terhelés hatására kialakuló traumás sérülés esetén jellemzően kapillármikroszkópos elváltozások figyelhetők meg. Biopsziás vizsgálatok során a digitális artériák simaizomzatának hipertrófiáját, illetve periarteriális fibrózist írták le [33,34]. Ez a folyamat a lumen beszűküléséhez vezet, így már a hidegingerre adott fiziológiás válasz is teljes, reverzibilis érelzáródással járó Raynaud-os roham kiváltására képes, késői stádiumban akár önmagában is, társuló vibrációs inger nélkül [35]. Autószerelőknél, asztalosoknál, karatézóknál írták le az ún. hypothénar – kalapács szindrómát, mely jellemzően olyan betegeknél alakul ki, akik kezük ulnaris részét kalapácsként használják. Spasmus következtében trombotizálódik az arteria ulnaris distalis része, illetve az arcus palmaris superficialis. Mikroembolizációk következtében

a digitális artériák is elzáródhatnak, mely a kórfolyamat további súlyosbodásához vezet [36].

2.5.2. Neurogén zavarok

Az autonóm idegrendszeri működés a szervezet thermoregulációjának egyik kulcseleme, mely vélhetően szerepet játszik mind a primer, mind a szekunder RS rohamainak fellépésében. Az ischaemiás epizódok kialakulásának kedveznek a lumenhez képest nagyon vastag médiával rendelkező (kb. 2:1 arány a media – lumen között) ujjartériák geometriai tulajdonságai, így már az értónus és érátmérő kismértékű változásai is jelentős vérátáramlás csökkenéssel járnak [37]. Ebben a folyamatban az érfal simaizomzatának normális szimpatikus impulzusokra adott hiperreaktivitása kifejezett szereppel bírhat [38]. A rohamok kiváltásában többek között szóba jöhet a fokozott noradrenalin felszabadulás a szimpatikus idegekből, a csökkent katecholamin lebomlás, az alfa-adrenoceptorok fokozott sűrűsége vagy affinitása, a béta-2 adrenoceptorok csökkent sűrűsége vagy affinitása, továbbá eltolódás az olyan másodlagos messengerek, mint a cAMP, cGMP és kalciumionok aktivitás/koncentráció arányában [39]. Freedman et al. kutatásai kimutatták, hogy a primer Raynaud szindrómás betegek perifériás alfa-adrenoceptor érzékenysége vagy sűrűsége fokozott [40]. Az alfa₂-adrenoreceptorok kiemelt szerepet játszanak az ujjak vasculáris tónusának szabályozásában, és a tanulmányok alapján szisztémás sclerosishoz társuló szekunder RS-ben kimutatható az arterioláris simaizmok fokozott alfa₂-adrenoreceptor reaktivitása [41]. A krónikus vibráció-okozta szekunder RS-ben is leírtak megváltozott adrenoceptor aktivitást [42]. A vegetatív idegrendszer vasodilatátor hatású működésében is figyeltek meg eltéréseket. A calcitonin-génfüggő peptid (CGRP), endogén értágító hatású faktorként fontos szerepet játszik főképp a bőr, de számos egyéb szerv neurovascularis kontrolljában. Primer RS, és SSc-hez társult szekunder RS betegek bőربيopsziáin végzett immunhisztokémiai vizsgálatok a CGRP-re reagáló neuronok számának jelentős csökkenését észlelték [43]. Az emocionális terhelés kiváltotta vasospasmus hátterében a szimpatikus rendszer központi aktivitásának túlzott mértékű fokozódása állhat.

2.5.3. Intravasculáris tényezők – thrombocyták, protrombotikus faktorok

A Raynaud-jelenség létrejöttében számos intravasculáris tényező játszhat szerepet; a leukocyták aktiváció, a megváltozott gyulladásos cytokin milió és a reperfüziók során képződő reaktív gyökök következtében kialakuló oxidatív károsodások szerepe kiemelkedő az érfalkárosodás kialakulásában [32].

Mind primer RS-ben és mind szisztémás sclerosishoz társult RS-ben is leírták a vérlemezkék aktivált állapotát [44], melyek véralvadási folyamatokban betöltött jelentőségükön túlmenően számos egyéb biológiai funkcióval rendelkeznek. Az elmúlt évtizedek kutatásai rávilágítottak arra, hogy a thrombocyták mellett, hogy vasoaktív faktorok termelése által fontos szerepet játszanak a vasculáris tónus szabályozásában, részt vesznek a gyulladásos folyamatokban és a szöveti átépülésben is.

A vérlemezkék aktiválódása során aktív mediátorok széles skálája szabadul fel, melyek hozzájárulnak az immunsejtek kemotaxisához, celluláris adhéziójához, a vasculáris ellenállás és permeabilitás megváltozásához, az angiogenesishez és sőt a kötőszöveti átépüléshez is (IV. Táblázat) [45]. A thrombocyták számos leukocyták kemoattraktáns faktor, úgymint kemokin (C-C) ligand 5 (CCL5), vérlemezke faktor 4 (PF-4), β -thromboglobulin és epitheliális neutrophil aktiváló peptid-78 (ENA-78) termelésével neutrophileket, eosinophileket, monocytákat és fibroblastokat vonzanak a gyulladás helyszínére [46]. Számos pro-inflammatorikus hatású mediátor [pl. interleukin (IL)-1 β , CD40 ligand, vérlemezke-eredetű növekedési faktor (PDGF)] révén is hozzájárulnak az immunválasz kifejlődéséhez [45,47,48]. A vérlemezkék aktivációját követően P-szelektint (CD62P) – egy egyláncú transzmembrán glikoproteinből álló sejtadhéziós molekula – transzlokálódik a thrombocyták membránjába, mely elősegíti a vérlemezkék adhézióját, aggregációját és a leukocyták toborzását. A P-szelektin elsődleges szerepet játszik a thrombocyták és a monocyták, neutrophilek, memória T sejtek, illetve természetes öölősejtek (NK – natural killer) közötti interakcióban, befolyásolva azok aktiválódását, funkcióját, kemokin és cytokin termelését [45]. Az angiogenesisben, a kötőszöveti átépülésben és a fibrotikus folyamatokban a vérlemezkék által termelt növekedési faktorok, a transzformáló növekedési faktor (TGF)- β , PDGF jelentősége emelhető ki [49,50].

Gyulladásos mediátorok	Növekedési faktorok
Nitrogén-monoxid *	Vérlemezke-eredetű növekedési faktor (PDGF)-A,B,C,D *
Tromboxán A ₂ *	Transzformáló növekedési faktor (TGF)-β1 és β2
Szerotonin *	Epidermális növekedési faktor (EGF)
Prostaglandinok *	Vasculáris endoteliális növekedési faktor (VEGF)-A és C
Vérlemezke aktiváló faktor	Inzulin-szerű növekedési faktor 1
Vérlemezke faktor 4	Agyból származó neurotróf faktor
Béta-tromboglobulin	Bázikus fibroblaszt növekedési faktor
P-szelektin	Hepatocita növekedési faktor (HGF)
Szolubilis CD40 ligand	
Adenozin *	
Adenin nukleotidok *	
Hisztamin *	
Neutrophil aktiváló peptid-78	
Mátrix metalloproteinázok	
Interleukin-1	
Monocita kemoattraktáns fehérje 3	
12-hidroxi-eikozatetraénsav	
Kemokin (C-C) ligand 5 (CCL5)	
2-arachidonil glicerid *	
Dinukleozid polifoszfátok	

IV. Táblázat. Thrombocyta eredetű mediátorok [45]. * vazoaktív hatású mediátorok

Mindezen megfigyelések alapján a fokozott vérlemezke aktiváció és megváltozott funkció potenciális szerepet játszhat a Raynaud-szindróma pathogenezisében. Tanulmányok kimutatták a thrombocyták fokozott aggregációs képességét *ex vivo* a Raynaud-szindróma primer és szisztémás sclerosishoz társult szekunder formájában is [51]. Az átlagos vérlemezke térfogatot (MPV) és a CD62P expressziót tekintjük az emelkedett thrombocyta aktiváció egyik legérzékenyebb markereinek [52-54]. Emelkedett MPV és CD62P szintet korábban már leírtak egyéb betegségekben: gyulladás, hiperlipidiémia, szívinfarktus, diabetes mellitus, hypertonia, és egyéb autoimmun megbetegedések esetén, például rheumatoid arthritisben [55-60], azonban a klinikai értéke az MPV-nak még tisztázatlan primer RS betegekben.

A vizsgálatok alapján a jellemzően szekunder RS kifejlődésével járó autoimmun kötőszöveti megbetegedésekben, különösképpen szisztémás sclerosisban csökken a plazma fibrinolízis, azonban primer RS-ban erősen kérdéses a fibrinolízis etiológiai szerepe [61,62]. Számos tanulmány számolt be emelkedett szolubilis von Willebrand faktor (vWF) szintekről SSc-ben, melynek pathológiai jelentőségét a vérlemezkék, illetve érendothel aktivációjára vezették vissza [61,63,64]. Primer RS-ben azonban egymásnak ellentmondó adatok jelentek meg a vWF szintjeit és a betegségben betöltött szerepét illetően [61,65,66].

Trombózis hajlam létrejöhet egyfelől genetikai tényezők miatt, másfelől a homeosztázis szerzett változásai is okozhatják, de a két tényező együttesen is jelen lehet. Primer RS-ban eddig nem találtak bizonyítékot arra, hogy a betegség pathogenezise kapcsolatban áll-e az öröklött protrombotikus kórállapotokkal. Az V-ös faktor Leiden mutációja (a génjének 1691-es nukleotid helyén adenin helyett guanin található), mely aktivált protein C rezisztenciához vezet, a leggyakoribb oka a vénás trombózisoknak az európai lakosság körében: 1-11%-os gyakorisággal fordul elő [67,68]. A protrombin G20210A polimorfizmus (FII G20210A - váltás guaninról adeninre a 20210 pozícióban) prevalenciája az átlagos populációban 0,7 - 4 %. A mutáció fokozott protrombin aktivitással jár, és a trombózisos esetek átlagosan 6,2 %-áért az emelkedett protrombin plazma aktivitás felelős [68,69]. A metiléntetrahidrofolát-reduktáz (MTHFR) (C677T - a citozin helyett timin a 677-es pozícióban) polimorfizmus a vénás és artériás trombózisok kockázati tényezői közé tartozik. Az átlagos populáció 5%-nál, míg a cardiovascularis megbetegedésekben szenvedők között

17%-ban fordul elő [70]. A MTHFR T677T mutációt hordozókban emelkedett a totál homocisztein szint, ahogy primer RS betegekben is hasonlóan emelkedett homocisztein szintet találtak [71]. Ezekben a betegekben a magasabb homocisztein szint növeli az endothel sérülések kockázatát. A XIII-as faktor A alegységét kódoló génnek a V34L polimorfizmusa a véralvadási rendszer egyik fontos funkcionális eltérését okozza. A jelentősége abban áll, hogy az aminosavcsere mindösszesen 3 aminosavnyira van a trombin hasítási helyétől az aktivációs peptidben. Egyértelműen kimutatták, hogy a proteolitikus hasítás gyorsabb az L34 variáns esetén, mely így korábban eredményezi a XIII-as faktor aktivációját, következésképpen felgyorsítja a fibrin keresztkötések kialakulását. Ez a polimorfizmus jelentős hatással bír a fibrin alvadék szerkezetére, valószínűleg a fibrin térháló kialakulási kinetikájának a megváltoztatása révén. Fehér emberek körében 25%-os prevalenciát, míg feketék és ázsiaiak körében alacsonyabb allél gyakoriságot írtak le [72]. A véralvadási folyamatokban szerepet játszó faktorok szintjének, illetve struktúrájának megváltozása szerepet játszhat a Raynaud-szindrómás betegekben megfigyelhető microangiopathia kifejlődésében is.

2.6. A migrén

A primer fejfájások közé tartozó migrén visszatérő, 4-72 órán keresztül tartó fejfájás, mely általában féloldali, lüktető karakterű, közepes vagy súlyos erősségű, a fizikai aktivitás rontja, gyakran hányinger, hányás, photo-, phonophobia kíséri. Legjelentősebb formái az IHS klasszifikáció szerint az aura nélküli migrén, és az aurával társult migrén, ez utóbbin belül a vizuális aura megjelenése a leggyakoribb.

A primer RS-ben megfigyelt vasopasticus rohamokhoz hasonlóan a migrén attack-ok esetében is szerepet játszhat a háttérben meghúzódó vascularis diszfunkciók. A migrén előfordulási gyakorisága egy néhány éve elkészült meta-analízis alapján az európai átlagos populációban 14,7%, jelentős női túlsúlyt mutatva (prevalencia nőkben 17,6%, férfiakban 8%) [73]. Raynaud-szindrómában több tanulmány eredménye alapján a migrén előfordulása jóval magasabb, 42-47% között mozog [74]. A vasopasticus kórállapotok és a vascularis rendszer funkcionális zavarának szisztémás jellegére utalhat a primer RS és a migrén gyakori társulása.

A migrénes rohamok kialakulásának pontos oka továbbra sem ismert teljes mértékben. A korábban széleskörűen elfogadott vascularis teória szerint az aura tünetek mögött vasoconstrictio okozta átmeneti agyi ischaemia áll, míg az ezután kialakuló fejfájást az intracranialis erek abnormálisan fokozott reaktív vasodilatatioja okozza. Azonban a funkcionális agyi képalkotó vizsgálatok eredményei alapján a folyamat kiváltásának hátterében elsődlegesen idegi működészavar állhat. A migrén aura tünetei alatt a cortical spreading depression (CSD) jelensége figyelhető meg, mely esetében az occipitalis kéreg felől, a kezdeti depolarizációt követően elhúzódó, lassan előrefelé terjedő hiperpolarizáció figyelhető meg, melyet vascularis hypoperfusio kísér. Ezt követi a fájdalom megjelenése, melyben a CSD által provokált hypoperfusio következtében kialakuló trigeminovascularis reflexnek és a meningealis érhálózat nociceptorainak van szerepe [75,76].

2.7. CÉLKITŰZÉSEK

2.7.1. Thrombocyta vizsgálatok primer Raynaud-szindrómában

Munkánk során a vérlemezkék szerepét vizsgáltuk a primer Raynaud-szindróma pathogenezisében. A betegekből nyert eredményeket az egészséges kontroll személyeknél mért adatokkal vetettük össze. Mivel a thrombocyták primer RS-ben betöltött szerepéről a szakirodalomban még nincs egységes álláspont, vizsgálataink céljait az alábbiakban határoztuk meg:

- 1) A primer Raynaud-szindrómában szenvedő betegek perifériás vérében keringő thrombocyták számának és átlagos térfogatának összehasonlítása egészséges kontroll értékekkel.
- 2) A vérlemezkék aktivációjának tanulmányozása a betegségben, a thrombocyták CD62P expressziójának meghatározása és egészséges személyekben mért eredményekkel való összehasonlítása által.
- 3) A laboratóriumi eredményekben megfigyelt eltérések és a betegek demográfiai és klinikai jellemzői közötti összefüggések vizsgálata.

2.7.2. Von Willebrand faktor és plazma fibrinogén vizsgálatok

Tanulmányunk során a véralvadási folyamatokban szerepet játszó von Willebrand faktor és fibrinogén lehetséges szerepét vizsgáltuk a primer Raynaud-szindróma kifejlődésében. Mivel a korábbi közlemények, melyek e faktorok megváltozott koncentrációi és a primer RS közötti összefüggést vizsgálták, csupán kisszámú betegcsoportot tanulmányoztak, többnyire a nemi összetétel figyelembe vétele nélkül, így az esetleges kapcsolat a fenti faktoroknál megnyilvánuló kvantitatív eltérések és a betegség kialakulása között továbbra sem egyértelmű. Mindezekből kiindulva célkitűzéseink az alábbiak voltak:

- 1) Nagyszámú, primer Raynaud-szindrómában szenvedő beteg plazmájában a von Willebrand faktor és fibrinogén szintek meghatározása.
- 2) A mért értékek összehasonlítása a férfi és női betegcsoportok között.
- 3) A magasabb von Willebrand faktor és fibrinogén plazma szintek és primer RS kifejlődésében betöltött rizikószerepének vizsgálata.

2.7.3. Protrombotikus polimorfizmus vizsgálatok

Számos korábbi tanulmány számolt be összefüggésekről a véralvadási rendszerben fellépő eltérések és a vasculáris diszfunkciók kialakulása között, melyek vasospasticus kórállapotok, köztük Raynaud-szindróma, Prinzmetal-angina, illetve migrén kifejlődéséhez vezethetnek. Vizsgálataink során a trombózisra hajlamosító genetikai tényezők szerepét tanulmányoztuk a migrén kialakulásában primer Raynaud-szindrómás betegeknél. Célkitűzéseink a következők voltak:

- 1) A humán V. faktor gén Leiden-mutáció nevű pontmutációjának (G és A csere a 1691-es pozícióban) kimutatása a betegpopulációban.
- 2) A protrombin G20210A polimorfizmusának (FII G20210A) detektálása a betegekből.
- 3) A metiléntetrahidrofolát reduktáz (MTHFR) gén C677T mutációjának vizsgálata a betegpopulációban.
- 4) A XIII. faktor (Laki-Lóránd-faktor) V34L mutációjának meghatározása a betegek körében.
- 5) A betegek két alcsoportba osztása a migrén társulása, illetve hiánya alapján, és a két betegcsoport polimorfizmus vizsgálatok során nyert adatainak összehasonlítása.

4. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Betegek

A kutatásaink során vizsgált primer Raynaud-szindrómás betegek rendszeres követése és gondozása a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Belgyógyászati Intézetének Klinikai Immunológiai Tanszékén történt. A vizsgálatba 200 primer Raynaud-szindrómás beteget vontunk be (158 nő, 42 férfi, átlagéletkor: $42,4 \pm 13,7$ év). A diagnózis megállapítása a megfelelő diagnosztikai kritériumok szerint történt [77,78]. A betegek gondozása és nyomon követése során teljes szerológia vizsgálatot végeztünk, hogy kimutassuk, illetve kizárjuk a kifejlődését az elsődleges kötőszöveti megbetegedéseknek, mely esetében szekunder RS-ról beszélünk. A laboratóriumi méréseinkhez kontrollként 116 krónikus betegségben nem szenvedő személy (77 nő, 39 férfi, átlagéletkor: $41,6 \pm 14,0$ év) szolgált, akik a betegekkel azonos földrajzi és etnikai származásúak voltak.

A vizsgálatba nem vontunk be olyan betegeket, akiknek az anamnézisében előfordult angina, myocardialis infarktus, diabetes mellitus, artériás vagy vénás trombózis, illetve kötőszöveti megbetegedés.

A betegeket átlagos nyomon követése $6,8 \pm 3,0$ év volt. A vizsgált betegek 29 %-nál szerepeltek az anamnézisben neurológiai szakvizsgálat során rögzített migrénes rohamok. A betegek 55 %-ának, illetve a kontrollok 47 %-ának szerepelt hiperlipidémia az anamnézisében, melynek megállapítása $5,2$ mmol/l feletti szérumszint koleszterinszint és/vagy $1,7$ mmol/l feletti trigliceridszint és/vagy rendszeresen lipidcsökkentő gyógyszeres kezelés alapján történt. A betegek és a kontroll személyek statin terápiáját tekintve nem volt érdemi eltérés tapasztalható. A vizsgálatba bevont személyek nem részesültek immunmoduláns, immunszuppresszív, illetve csontvelői működést vagy thrombocyta számot/-funkciót befolyásoló kezelésben. Sem a betegek, sem a kontrollok nem szenvedtek fertőzésben a mintavételt megelőző 3 hónapban, továbbá a vizsgálatok időpontjában mért szérumszintek a referencia tartományban voltak (<10 mg/L).

A vizsgálatokban részt vevő személyek írásbeli beleegyező nyilatkozatot tettek. A kutatásokat a Debreceni Egyetem OEC Etikai Bizottsága engedélyezte, a kísérletek a Helsinki Nyilatkozatban foglaltaknak megfelelően történtek.

4.2. Általános laboratóriumi vizsgálatok

A hematológiai vizsgálatok EDTA-val alvadásgátolt perifériás vérből történtek Sysmex SF-3000 készülék (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) használatával, a gyártó által megadott protokollnak megfelelően. A CRP, koleszterin és triglicerid szintek meghatározása a vizsgálatba bevont személyek szérumból a napi rutinméréseknek megfelelően COBAS Integra 400 készüléken (Roche, Mannheim, Germany) történtek a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében.

4.3. Autoantitestek kimutatása

Az autoantitestek vizsgálata a Debreceni Egyetem Klinikai Immunológiai Tanszékének Regionális Immunológiai Laboratóriumában történt indirekt immunfluoreszcenciás technika alkalmazásával, a HEp2 sejteken IFA-ANA-HEp2-IgG immunfluoreszcenciás kit (Viro-Immun Labor-Diagnostika GmbH, Oberursel, Germany) felhasználásával a gyártó által megadott instrukcióknak megfelelően. A mintázatok azonosítására Eurostar II Plus fluoreszcens mikroszkópot (EUROIMMUN AG, Lübeck, Germany) használtunk.

A HEp2 sejttes vizsgálat mellett az extrahálható nukleáris antigén (ENA) elleni antitestek ELISA szűrőtesztje is megtörtént, melynek pozitivitása esetén Sm, Sm/RNP, SS-A, SS-B, Scl-70 és Jo-1 elleni antitestek egyedi meghatározását is elvégeztük ELISA módszerrel a megfelelő AUTOSTAT II kit (Hycor Biomedical, Indianapolis, IN, USA) alkalmazásával, a gyártó által megadott protokollnak megfelelően. A mérésekhez és az adatok kiértékeléséhez ETI-MAX 300 készülék (Diasorin, Saluggia, Italy) szolgált.

4.4. Áramlási citometriás vizsgálat

A vérlemezkék meghatározása anti-CD42a-fluoreszcein izotiocianát (FITC) monoklonális antitesttel történt. A vérlemezkék aktivációjának vizsgálatára anti-CD62P-fikoeritrin (PE) monoklonális ellenanyagot (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) használtuk fel. 40 µl, Na-citráttal alvadásgátolt perifériás vért 1 ml 1 %-os paraformaldehiddel fixáltuk, foszfát pufferrel (PBS) mostuk, majd a monoklonális antitestek hozzáadását követően 20 percig sötétben, szobahőmérsékleten inkubáltuk. A méréseket és kiértékeléseket a FACS Calibur áramlási cytométeren a CellQuest 3.2 program (Becton Dickinson) segítségével végeztük el. Minden mérésénél legalább 10.000 kettős festődésű thrombocytát gyűjtöttünk össze a minták kiértékelése során.

4.5. A von Willebrand faktor és fibrinogén plazma szintek meghatározása

A haemostasis vizsgálatok, fibrinogén plazma szintek meghatározása Na-citráttal alvadásgátolt perifériás vérből történtek BCS XP készüléken (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA).

A vWF szintek meghatározása enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technikával történt a gyártó által megadott protokollnak megfelelően a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében.

4.6. Genetikai polimorfizmus vizsgálatok

A DNS-t alvadásgátolt perifériás vérmintából nyertük ki MagNA Pure LC kit segítségével (Roche Diagnostics), a gyártó által megadott protokollnak megfelelően. Az V-ös faktor G1691A mutációjának, a II-es faktor G20210A mutációjának, az MTHFR gén C677T mutációjának és a XIII-as faktor V34L mutációinak kimutatása real-time fluoreszcens polimeráz-láncreakció (PCR) alkalmazásával, LightCycler (Roche Diagnostics) készülék felhasználásával történt [79,80].

4.7. Statisztikai módszerek

A statisztikai adatfeldolgozás során SPSS v.12.0 és 13.0 szoftvert (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) alkalmaztunk. Az adataink eloszlásának vizsgálatát Kolgomorov-Smirnov teszttel végeztük el. Normál eloszlás esetén meghatároztuk az átlag $\pm$ szórás (standard deviáció: SD) / standard error mean (SEM) értékeket, és a kísérleti adataink statisztikai kiértékeléséhez független mintás t-próbát végeztünk.

Nem-normál eloszlás esetén medián, valamint minimum és maximum értékeket kalkuláltunk, és Mann-Whitney próbát alkalmaztunk a statisztikai kiértékelések során.

A csoportok közötti megoszlást χ^2 teszttel vizsgáltuk. Bináris logisztikus regressziós vizsgálatokat alkalmaztunk az esélyhányados értékek (odds ratio: OR), 95% konfidencia intervallum (CI) és független prediktív faktorok meghatározása céljából. A statisztikai próbák értékelésénél a $p < 0,05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Thrombocyta vizsgálatok eredményei

Az V. Táblázat a tanulmányban részt vevők demográfiai és klinikai jellegzetességeit mutatja be. Nem volt jelentős különbség a primer RS betegcsoport ($42,4 \pm 10,0$ év) és a kontroll csoport átlagéletkora ($41,6 \pm 14,0$ év) között. Azonban a férfi-nő arány szignifikánsan különbözött a betegek és az egészséges személyek esetén, emiatt a statisztikai feldolgozás során nemre illesztett logisztikus regressziós vizsgálatot alkalmaztunk. Minden primer RS beteg esetén a szerológiai eredmények a referencia tartományokon belülre estek, illetve negatívak voltak, autoimmun betegség nem volt diagnosztizálható.

	pRS betegek (n = 200)	Kontroll személyek (n = 116)	<i>p</i> -érték
Nő/Férfi, n (%)	158/42 (79/21)	77/39 (66/34)	< 0,05
Életkor (év)	$42,4 \pm 10,0$	$41,6 \pm 14,0$	n.s.
Hiperlipidémia, n (%)	110 (55)	54 (47)	n.s.
Thrombocyta szám ($\times 10^9/l$)	$250 \pm 4,6$	$268 \pm 5,4$	< 0,05
Átlagos vérlemezke térfogat (fl)	$11,0 \pm 0,1$	$8,8 \pm 0,1$	< 0,001
CD62P pozitivitás (%)	$1,3 \pm 1,1$	$0,7 \pm 1,1$	< 0,001
Fehérvérsajt szám ($\times 10^9/l$)	$6,8 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,2$	n.s.
CRP (mg/l)	$1,42 \pm 1,1$	$1,38 \pm 1,1$	n.s.
Betegség kezdete (életkor év)	$36 \pm 1,0$	–	–
Betegség fennállása (év)	$6,8 \pm 0,3$	–	–

V. Táblázat. Primer Raynaud-szindrómás betegek és kontroll személyek demográfiai és klinikai jellemzői. Az adatok átlagos értékek $\pm$ SD vagy medián (tartomány: 25 és 75 percentil), *p*-értékek számítása Mann-Whitney U teszttel és Fisher próbával történtek. (pRS: primer Raynaud-szindróma, CRP: C-reaktív protein, n.s.: nem szignifikáns)

5.1.1. Thrombocyta szám és átlagos térfogat

A thrombocytaszám szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult a vizsgált primer RS csoportban, mint az egészséges kontrollcsoport esetén ($250 \pm 4,6 \times 10^9/l$ vs. $268 \pm 5,4 \times 10^9/l$, $p < 0,05$). A hiperlipidémia aránya az összehasonlítás során hasonlóan adódott (55% vs. 47%) mindkét csoportban, valamint nem észleltünk gyulladásos folyamatokat a CRP szint és fehérvérsejtszám meghatározása során (V. Táblázat)

A vizsgálat során az MPV értékek szignifikánsan emelkedettek voltak a betegekben a kontrollcsoportéhoz viszonyítva ($11,0 \pm 0,1$ fl vs. $8,8 \pm 0,1$ fl, $p < 0,001$), továbbá szignifikáns negatív korrelációt figyeltünk meg az MPV értékek és a vérlemezkeszámok között ($R = -0,470$, $p < 0,001$).

5.1.2. CD62P expresszió vizsgálata

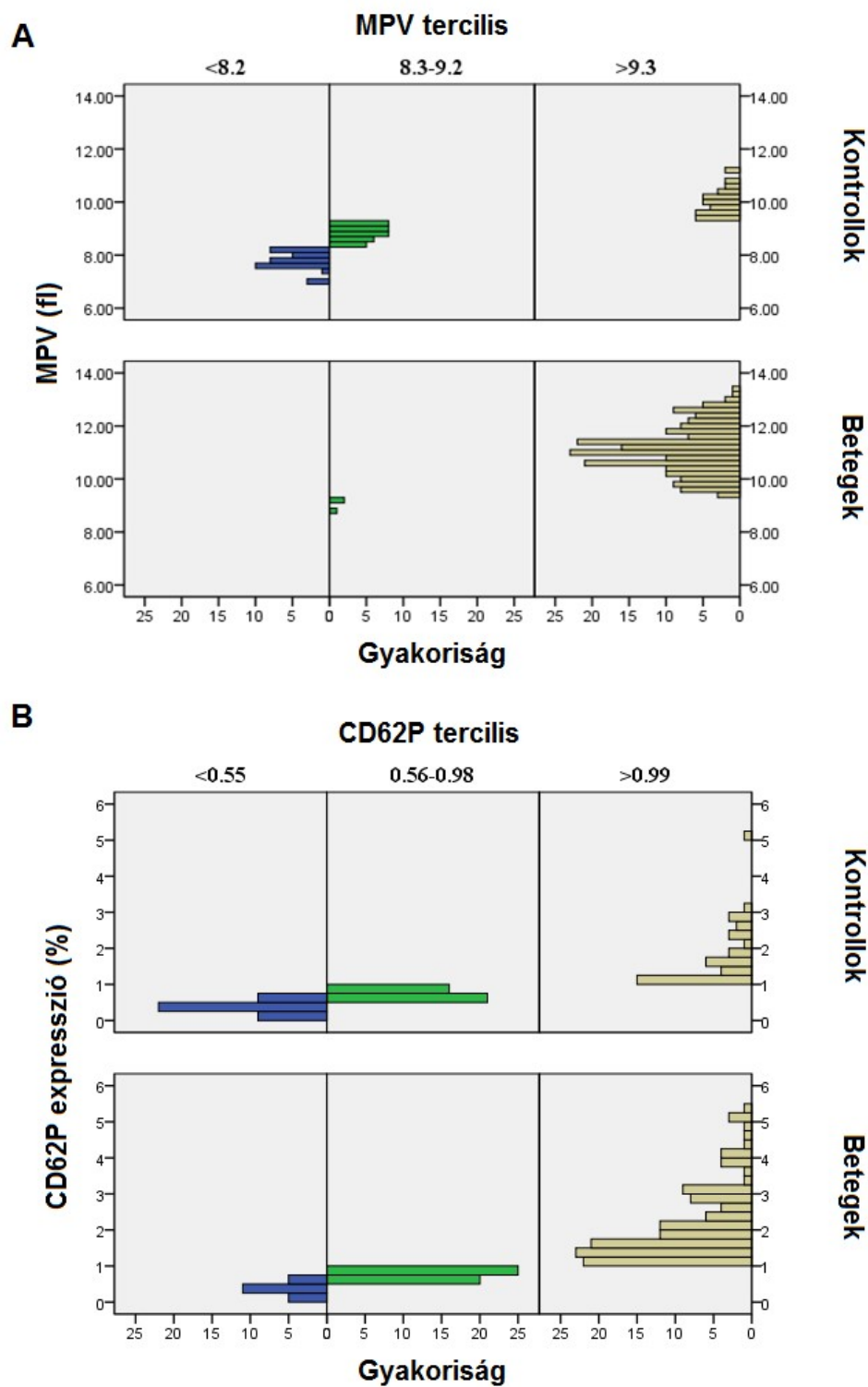
A thrombocyták CD62P expressziójának mértéke szignifikánsan fokozottnak adódott a primer RS csoportban a kontrollhoz képest ($1,3 \pm 1,1$ % vs. $0,7 \pm 1,1$ %, $p < 0,001$). A statisztikai feldolgozás során szignifikáns pozitív korrelációt tapasztaltunk a thrombocyták CD62P expressziója és a számuk között ($R = 0,137$, $p = 0,032$).

5.1.3. Klinikai adatok és laboratóriumi eredmények közötti összefüggések

Nem mutattak összefüggést a vérlemezkeszámok, MPV és CD62P értékek a betegek korával, illetve nemével, sem a betegség időtartamával. Amikor nemekre elkülönítve hasonlítottuk össze a beteg és egészséges kontroll populációkat, akkor a fentiekhez hasonló, szignifikáns ($p < 0,001$) különbségeket tapasztaltunk az MPV értékek és a CD62P expressziójának mértékét tekintve a csoportok között. Az MPV értékeket illesztettük a vérlemezkeszámmra és nemre az egész betegcsoportban, valamint a vérlemezkeszámmra a női alcsoportban. Az esélyhányados a többszörös logisztikus regressziós analízis után azt mutatta, hogy mind az MPV (OR: 15,8, 95 % CI: 8,1-30,6) mind a CD62P expresszió (OR: 11,3, 95 % CI: 4,8-26,1) szignifikánsan ($p < 0,001$) és

függetlenül kapcsolódott a primer RS-hez a teljes betegcsoportban, illetve a különböző nemű alcsoportokban egyaránt.

Az elemzés során az MPV értékeket illesztettük a PLT és a fehérvérsejtszámra a teljes csoportban és a női alcsoportban, míg CD62P expressziót a thrombocyta számra és a nemekre illesztettük a teljes csoportban, míg a női alcsoportban a thrombocyta számra történt illesztés. Figyelemre méltó, hogy a kontroll csoport 30,2 %-a, míg a betegcsoport 98 %-a tartozott az MPV felső terciliséhez ($> 9,3$ fl). A CD62P expresszió szempontjából a felső tercilisbe ($> 0,99$ %) a kontroll személyek 33,6 %-a, míg a primer RS alanyoknak 67 %-a tartozott (2. Ábra).



2. Ábra. A vizsgálatba bevont személyek megoszlása az átlagos vérlemezke térfogat értékek (A) és a CD62P expresszió mértékének terciliseiben (B). A tercilis értékeket az egészséges kontroll értékek alapján kalkuláltuk. (MPV: átlagos vérlemezke térfogat)

5.2. Von Willebrand faktor és plazma fibrinogén vizsgálatok eredményei

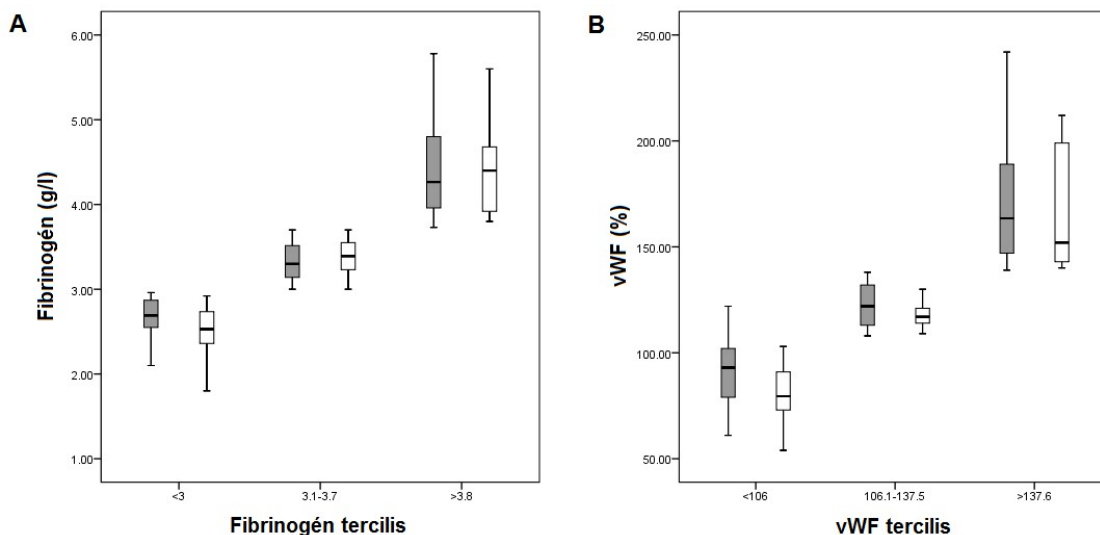
A VI. Táblázat a vizsgált betegek főbb klinikai jellemzőjét mutatja. Nem látható különbség a csoportok vWF szintjében. Fibrinogén szintje mérsékelt, de szignifikánsan emelkedett volt a női csoportban.

Jellemzők	Nők (n = 158)	Férfiak (n = 42)	<i>p</i> -érték
Kor (év)	42 ± 13	43 ± 16	0,752
Fibrinogén (g/L)	3,5 ± 0,8	3,1 ± 0,8	0,016
vWF (%)	126 ± 38	121 ± 40	0,392
CRP (mg/L)	1,4 (0,7 - 3,0)	1,4 (0,7 - 3,0)	0,128
BMI (kg/m ²)	22 ± 2,2	25 ± 2,5	<0,0001
Dohányzás anamnézisben (%)	29 (18)	23 (55)	<0,0001
Hypertonia (%)	18 (11)	9 (21)	0,077
Betegség kezdete (életkor év)	36 ± 14	38 ± 12	0,346
Betegség fennállása (év)	6,7 ± 4,5	7,2 ± 5,3	0,541

VI. Táblázat. Primer Raynaud betegségben szenvedő férfi és női betegek demográfiai jellemzői. Az adatok átlagos értékek ± SD vagy medián (tartomány: 25 és 75 percentil), *p*-értékek számítása t-próbával vagy Mann-Whitney U teszttel. (vWF: von Willebrand faktor, CRP: C-reaktív protein, BMI: testtömegindex)

5.2.1. A nemi megoszlás és a vizsgálati eredmények közötti összefüggések

A vWF és a fibrinogén szintek alapján tercilis értékeket kalkuláltunk, majd nemi alcsoportok alapján összehasonlítottuk őket (3. Ábra).



3. Ábra. Fibrinogén és vWF szintek a primer Raynaud szindrómában szenvedő férfi és női betegek csoportjában a tercilisek alapján elosztva. Az ábrákon az átlagértékeket, a felső és alsó kvartiliseket, illetve szórásokat tüntettük fel. A szürke a nőit, a fehér a férfi nemet jelöli.

Fibrinogén szintek az alsó tercilisben szignifikánsan magasabbnak adódtak a női csoportban a férfiakhoz viszonyítva ($p = 0,045$). A másik két tercilisben nem találtunk különbséget a fibrinogén szintjében a női és férfi csoportok között. Sem a vWF felső tercilise [$> 137,6 \%$, OR (CI 95%): 1,022 (0,466-2,239), $p = 0,958$] sem a fibrinogén felső tercilise [$> 3,8 \text{ g/L}$, OR (CI 95%): 0,931 (0,333-2,608), $p = 0,892$] nem mutatott szignifikáns kockázatot primer RS-re a nők és a férfiak között.

5.3. Protrombotikus polimorfizmus vizsgálatok eredményei

A VII. Táblázat a vizsgált betegek releváns klinikai jellemzőit mutatja. A betegek átlagéletkora 42 év (18 és 72 év között), a férfiak és a nők aránya 42:158. A vizsgálatba bevont primer Raynaud-szindrómás beteg betegek 29%-a esetében ($n = 58$) szerepelt migrén az anamnesztikus adatokban. A primer RS fennállásának időtartama szignifikánsan hosszabb volt a migrénes betegekben ($5,9 \pm 4,4$ év), mint a migrénnel nem rendelkező betegekben ($9,1 \pm 4,9$ év), mind a teljes csoportban és mind a nemek alapján különválasztott csoportokban is ($p < 0,001$).

	Migrén nélkül	Migrénnel	<i>p</i> -érték
Résztvevők száma	142	58	
Nem			<0,001
Nő; <i>n</i> (%)	101 (67%)	57 (98%)	
Férfi; <i>n</i> (%)	41 (33%)	1 (2%)	
Életkor (év)	$41,8 \pm 14,5$	$43,8 \pm 11,5$	0,359 [0,370]
Betegség kezdete (életkor év)	$36,4 \pm 14,1$	$36,5 \pm 13,5$	0,978 [0,626]
Betegség fennállása (év)	$5,9 \pm 4,4$	$9,1 \pm 4,9$	<0,001 [<0,001]

VII. Táblázat. A migrénes és nem migrénes primer RS-ben szenvedő betegek demográfiai jellemzői. Az adatok átlagos értékek $\pm$ SD. A [] zárójelben lévő értékek a női nemre vannak kalkulálva.

5.3.1. Genetikai polimorfizmusok prevalenciája

A VIII. Táblázatban vannak feltüntetve a vizsgált gén polimorfizmusok prevalenciái és az esélyhányados értékei 95 %-os konfidencia intervallumokkal. Az összes beteg közül 20 (10 %) rendelkezett az V faktor Leiden allél polimorfizmusával.

Ezek közül a betegek közül 18 volt heterozigóta és 2 homozigóta a FV Leiden allélra. FII20210A allél polimorfizmusának prevalenciája 5 %-nak adódott. Nem voltak az FII20210A allélra homozigóta egyének. Érdekes módon nem volt MTHFR homozigóta mutáció a migrénnel küzdő betegek között. A T allél gyakorisága szignifikáns eltéréseket mutatott a migrénes (50 %) és a nem migrénes (32 %) esetek között (OR: 2,1, 95 % CI: 1,4-3,3, $p = 0,001$). Hetvenhat beteg (38 %) volt heterozigóta és 14 (7 %) volt homozigóta a XIII-as faktor V34L polimorfizmusára. Ebben a vizsgálatban MTHFR 677T szignifikánsan magasabb allél frekvenciája volt kimutatható a migrénes primer RS betegekben. Nem észleltünk korrelációt a migrén előfordulása és a II. faktor G20210A, az V-ös faktor Leiden, vagy a XIII-as faktor V34L mutációi között.

	Vad típus	Heterozigóta	Homozigóta	Hordozó F	Allél F
FVLeiden					
Migrén nélkül, n (%)	130 (91,5)	11 (7,7)	1 (0,8)	8,5 %	4,6 %
Migrénnel, n (%)	50 (86,2)	7 (12)	1 (1,8)	13,8 %	7,7 %
OR*		1,7 (0,6-4,5)	2,6 (0,2-42)	1,7 (0,7-4,5)	1,8 (0,7-4,2)
p-érték		0,325	0,502	0,258	0,210
FII 20210A					
Migrén nélkül, n (%)	136 (95,8)	6 (4,2)	-	4,2 %	2,1 %
Migrénnel, n (%)	54 (93,1)	4 (6,9)	-	6,9 %	3,4 %
OR		1,7 (0,5-6,2)	-	1,7 (0,5-6,2)	1,7 (0,5-6,0)
p-érték		0,436	-	0,436	0,442
MTHFR					
Migrén nélkül, n (%)	62 (44)	67 (47,5)	12 (8,5)	56 %	32 %
Migrénnel, n (%)	29 (50)	29 (50)	0 (0)	50 %	50 %
OR		1,1 (0,6-2,0)	-	0,8 (0,4-1,4)	2,1 (1,4-3,3)
p-érték		0.806	-	0,438	0,001
FXIII-A V34L					
Migrén nélkül, n (%)	75 (52,8)	58 (40,8)	9 (8,5)	47 %	27 %
Migrénnel, n (%)	35 (60,3)	18 (31,1)	5 (8,6)	40 %	24 %
OR*		0,7 (0,3-1,3)	1,2 (0,4-3,8)	0,7 (0,4-1,4)	0,8 (0,5-1,4)
p-érték		0,228	0,769	0,332	0,498

VIII. Táblázat. Az FVLeiden, FIIG20210A, MTHFR és FXIII-A V34L polymorphismusok prevalenciája migrénnel és migrén nélkül primer Raynaud jelenségben. (OR: esélyhányados 95 %-os konfidencia intervallummal, F: frekvencia)

6. MEGBESZÉLÉS

6.1. Thrombocyta vizsgálatok primer Raynaud-szindrómában

Számos tényező járulhat hozzá a primer RS pathogeneziséhez, de a komplex pathomechanizmus részleteiben még nem ismert. A primer RS betegekben, a számos eltérés között már korábban leírták, a szöveti plazminogén aktivátor antigén emelkedett szintjét, valamint a thrombocyta GPIIb/IIIa receptor aktivációját, következményesen emelkedett tromboxán szinttel [81]. Érdekes módon, primer RS esetén ellentmondó adatok jelentek meg a thrombocyta eredetű mikropartikulumok emelkedett szintjéről [82,83]. Azonban a thrombocyta-monocyta és a thrombocyta-neutophil heterotípusos aggregátumok százalékos aránya szignifikánsan magasabb volt a primer RS betegekben mint az egészséges kontroll csoportban [83]. Ezenkívül a primer RS etiológiájának része lehet még a thrombocyta hiperaktiváció és az arteriális mikrotrombózis kialakulása az ujjakban [84].

Az MPV, egy az automata hematológiai analizátorok által rutinszerűen mért thrombocyta paraméter, melynek abnormális értéke megváltozott thrombocyta reaktivitásra utalhat, és potenciális vasculáris kockázatot jelezhet [50]. A gyorsított thrombocyta turnover a csontvelőből származó hálószerű thrombocyta emelkedett szintjével növelheti az MPV értékét [85]. A korábbi vizsgálatok szerint, az átlagos thrombocyta térfogat növekedése előre jelezheti cardio- és cerebrovasculáris betegségek [52,56,83,86] vagy perifériás arteriális betegségek kifejlődését és progresszióját [87]. Az MPV a normálisnál magasabb súlyos dislipidemiában és diabetes mellitusban is [53]. Kimutatták továbbá, hogy az MPV emelkedése a hypertóniával is összefügghet [60]. Más tanulmányokban az MPV változásai a thrombogenezisben bekövetkező módosulásokhoz, keringő autoantitestek és a gyulladásos ágensek szintjéhez kapcsolódik [88,89].

Jelen tanulmányunkban, az emelkedett MPV érték, a vérlemezék fokozott CD62P expressziójával a megnövekedett thrombocyta reaktivitást tükrözi, mely a primer RS kifejlődésének egy potenciális okát, de annak következményét is egyaránt képezheti. Majdnem az összes primer RS beteg (98 %) az MPV legmagasabb

terciliséhez tartozott, míg a CD62P pozitivitás tekintetében ez az arány 2/3 volt. Az MPV szint szignifikánsan magasabb maradt a teljes betegcsoportban és a nemi alcsoportokban is a kontroll csoporthoz viszonyítva, a különböző torzító tényezők kiiktatása után is. Mindezek alapján a primer RS betegségben az MPV egy gazdaságosabb és egyben szenzitívebb marker, mint a CD62P. További vizsgálatok szükségesek, hogy megvizsgáljuk a magas MPV értékeket a thrombocyták funkcionális szerepével együtt primer RS-ben, trombotikus eseményekkel, illetve azok nélkül.

Tanulmányunkban a primer RS betegekben szignifikánsan alacsony vérlemezkeszám volt megfigyelhető, mely arra utal, hogy a thrombocyta aktiváció következtében csökken a keringő thrombocyták száma. Érdekes módon a szakirodalomban RA-ban ezzel szemben megnövekedett vérlemezkeszámról számoltak be [60,90]. Ezen eltérés oka a primer RS és az RA kifejlődésének hátterében álló aktivált thrombocyták eltérő pathofiziológiai funkciója lehet.

Primer RS-ben a fokozott csontvelői vérlemezke képződés következtében a csontvelői megakaryociták fiatal és nagyobb thrombocyták képződéséhez járulnak hozzá. Mindezt alátámasztja az, hogy az MPV szignifikánsan magasabb értéket mutatott a vizsgált betegek döntő részében. Eredményeink alapján az emelkedett MPV kapcsolatban van a primer RS-val, de a kor, a nem és a betegség időtartama nem változtat e paraméteren.

Habár a vizsgálatba bevont személyek nem részesültek immunmoduláns, immunszuppresszív, illetve csontvelői működést vagy thrombocyta számot vagy -funkciót befolyásoló kezelésben, az esetenként alkalmazott egyéb terápiák esetleges torzító hatásait a többszörös, ismételt mintavétellel csökkenteni lehetett volna. A betegek hosszabb távú nyomon követése, és a vizsgált vérlemezke paraméterekben bekövetkezett változások és alkalmazott kezelések közötti összefüggések feltérképezése által pontosabb képet nyerhetünk az általunk megfigyelt összefüggésekről.

6.2. Von Willebrand faktor és plazma fibrinogén vizsgálatok

Az endotheliumot ért sérüléseket követően a thrombusképződés során a fibrinogénből fibrin keletkezik. A túlzott fibrin felhalmozódást a fibrinolitikus rendszer akadályozza meg, ami a fibrinszálak lebontásáért és eltávolításáért felelős. A pathológiásan csökkent plazma fibrinolízis hozzájárulhat a vér szabad áramlásának gátlásához, ami a trombotikus érrendszeri betegségek egyik fontos kiváltó mechanizmusa [91]. A szakirodalomban eltérő és egymásnak ellentmondó eredmények láttak napvilágot, melynek következtében nem tisztázott a vWF és plazma fibrinogén szintek primer Raynaud-szindrómában játszott szerepe [61,65,66]. Tanulmányunk eredményei alapján azonban valószínűleg nem szerepel kóroki tényezőként a vWF és fibrinogén szintek változása a primer RS kialakulásában sem a férfi, sem a női nemben.

6.3. Protrombotikus polimorfizmus vizsgálatok

A fokozott protrombotikus kockázattal járó eltérések (FVLeiden és FII20210A mutáció, illetve FXIII-A V34L polimorfizmus) előfordulása nem különbözik jelentősen a migrénes illetve nem migrénes primer RS betegek esetében. Az eredményeink besorolhatóak azon utóbbi időben megjelent közlemények csoportjába, amelyek az FVLeiden, FII20210A genotípusok és a migrén közötti összefüggést vizsgálják [92-95]. A többiekkel egyetemben [96] a mi adataink is azt támasztják alá, hogy, a XIII-as factor 34L allélje nem rendelkezik migrén ellen védő képességgel.

A neurológiai- illetve érrendszeri elmélet együtt magyarázhatják a migrén pathofiziológiáját [97]. A neurológia hipotézis szerint idegi folyamatok, és következményes nervus trigeminust ingerül áll a véráramlás megváltozásának hátterében. Az érrendszeri elmélet a migrénes rohamokat a cerebrális vérerek perivascularis idegeiben bekövetkezett változással magyarázza. Bizonyított, hogy az agyi és meningeális véredények direkt stimulálása ipsilaterális fejfájáshoz vezet. A primer Raynaud-szindrómában az átlagos népességhez képest jelentősen emelkedett arányban jelentkezik migrén, mely alapján a két kórállapot pathogenezeise részben átfedhet egymással.

Az MTHFR a remetilizációs folyamatokban szerepet játszó enzim, mely az 5,10-metilén-THF-ot redukcióval 5-metil-THF-é alakítja. A MTHFR 677 C-T pontmutációja a fehérje 222-es aminosavát alaninról valinra változtatja, melynek következtében az enzim termolabilis variánsa szintetizálódik. Ez a mutáció az 5-MTH mennyiségének csökkentésével hiperhomociszteinémiához vezet. A hőérzékeny MTHFR a Hcy út leggyakoribb öröklött defektusa. Az MTHFR mutációra homozigóta egyéneknek jelentősen magasabb a Hcy szintje jellemző a vad vagy heterozigóta kariotípusokhoz képest [98]. Hiperhomociszteinémia a cardiovascularis betegségek [99] tekintetében önálló rizikófaktornak számít és több mechanizmussal is részt vesz az erek károsításában. Közvetlenül károsítja az endotheliumot [100], és az oxidatív stressz hatásait is felerősíti [101]. Embereken és állatokon végzett tanulmányok a közepesen súlyos hiperhomociszteinémia vérerekre gyakorolt negatív hatását támasztották alá [102,103]. A homocisztein által okozott hibás érendothelium-működés a nervus trigeminus ingerlésével migrénre való érzékenységet okozhat [97]. Az emelkedett szintű

Hcy neuronokra gyakorolt hatása a reaktív oxigén gyökök keletkezését is magába foglalja [104]. Korábbi vizsgálatok során a primer RS-ben szenvedő betegek körében az egészséges kontrollokhoz képest az MTHFR mutációjának gyakorisága alacsonyabbnak adódott [105]. Ezzel szemben több tanulmány is leírta a MTHFR C677T variánsának fokozott gyakoriságát migrénes betegek körében [106]. Ezzel összhangban, az értekezésemben részletezett vizsgálatban szereplő primer RS-ben szenvedő betegeink körében az MTHFR C677T variánsának gyakorisága jelentősen magasabbnak adódott migréntől szenvedőkben a nem migrénesekhez képest. Megfigyeléseink alapján a hosszabb ideig fennálló primer RS és az MTHFR 677T allél jelenléte a migrénes fejfájás kialakulásának kockázatát emelheti.

Primer RS-ben csak kevés adat áll rendelkezésre a homocisztein szintjeiket illetően, és azok is ellentmondásosak. A témában született közlemények vagy változatlan, vagy a kontrollokhoz képest emelkedett homocisztein szinteket írtak le [107]. Mindezek következtében a homocisztein jelentősége a primer RS-ben megfigyelhető vasomotoros diszregulációban még nem tisztázott teljes mértékben. Így nem zárható ki, hogy az általunk vizsgált MTHFR 677T allél fokozott jelenléte elsősorban a migrénhez köthető, függetlenül a fennálló primer RS-től.

További eredményeink alapján az FV Leiden, FII G20210A, illetve FXIII V34L mutáció által okozott trombofília nem köthető össze primer RS-ban a migrén kifejlődésével.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A primer Raynaud-szindrómás (RS) betegek vérlemezkéinek vizsgálata során szignifikánsan csökkent thrombocyta számot írtunk le a betegekben a kontrollcsoportéhoz viszonyítva. Ezzel szemben az átlagos vérlemezke térfogat (MPV) értékek szignifikánsan emelkedettek voltak, és a statisztikai feldolgozás során negatív korrelációt figyeltünk meg az MPV értékek és a vérlemezkeszámok között. Továbbá a thrombocyták aktiváltságát jelző CD62P marker jelenléte is fokozott volt primer RS-ben. Az emelkedett MPV érték és a vérlemezkék fokozott CD62P expressziója a megnövekedett thrombocyta reaktivitást tükrözi, mely a primer RS kifejlődésének egy potenciális okát, de annak következményét is egyaránt képezheti.

A von Willebrand faktor és fibrinogén plazma szintek vizsgálata során nem tapasztaltunk eltéréseket az értékekben a betegeink perifériás vérében. Tanulmányunk alapján valószínűleg nem szerepelnek kóroki tényezőként a primer RS kialakulásában sem a férfi, sem a női nemben.

Protrombotikus polimorfizmus vizsgálataink alapján a hosszabb ideig fennálló primer RS betegség és az MTHFR 677T allél jelenléte a migrénes fejfájás kialakulásának kockázatát emelheti. További eredményeink szerint az FV Leiden, FII G20210A, illetve FXIII V34L mutáció által okozott trombofília nem köthető össze primer RS-ban a migrén kifejlődésével.

SUMMARY

The results of our study on primary Raynaud's syndrome (RS) indicate the involvement of altered platelet functions in the disease pathogenesis. We found significantly decreased platelet numbers in patients, compared to the results of healthy individuals. Regarding mean platelet volume (MPV), we found significantly elevated values in the disease, moreover, the statistical analysis revealed a clear negative correlation between the aforementioned parameters. Of note, according to our data, CD62P expression was significantly elevated on platelets in primary RS, which indicates the activated state of the platelets. The increased MPV values also seem to reflect enlarged platelet reactivity as a potential cause or consequence of the development of primary RS.

We did not find any alteration in plasma levels of von Willebrand factor or fibrinogen, which indicates that they are not associated with primary RS in women or men.

Our investigations on prothrombotic polymorphisms revealed that the longer duration of primary RS and the presence of MTHFR 677T allele may increase the risk of migraine headache. Moreover, there is no rationale for premising that a thrombophilic state caused by the FV Leiden, FII G20210A and FXIII V34L mutations should be associated with migraine in primary RS.

8. IRODALOMJEGYZÉK

8.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Takáts A, Garai I, Papp G, Hevér T, Csiki E, András C, Csiki Z. Raynaud-szindróma, 2011. Orv Hetil. 2012;153:403-409.
2. Heidrich H. Functional vascular diseases: Raynaud's syndrome, acrocyanosis and erythromelalgia. Vasa 2010;39:33-41.
3. Lambova SN, Müller-Ladner U. The role of capillaroscopy in differentiation of primary and secondary Raynaud's phenomenon in rheumatic diseases: a review of the literature and two case reports. Rheumatol Int. 2009;29:1263-1271.
4. Herrick AL, van den Hoogen F, Gabrielli A. et al. Modified-release sildenafil reduces Raynaud's phenomenon attack frequency in limited cutaneous systemic sclerosis. Arthritis Rheum. 2011;63:775-782.
5. Rosato E, Molinaro I, Pisarri S, et al. Digital ulcers as an initial manifestation of systemic lupus erythematosus. Intern Med. 2011;50:767-769.
6. Hartmann P, Mohokum M, Schlattmann P. The association of Raynaud's syndrome with carpal tunnel syndrome: a meta-analysis. Rheumatol Int. 2012;32:569-574.
7. Bovenzi M. A longitudinal study of vibration white finger, cold response of digital arteries, and measures of daily vibration exposure. Int Arch Occup Environ Health. 2010;83:259-272.
8. Purdie GL, Purdie DJ, Harrison AA. Raynaud's Phenomenon in medical laboratory workers who work with solvents. J Rheumatol. 2011;38:1940-1946.
9. LeRoy EC, Medsger TA Jr. Raynaud's phenomenon: a proposal for classification. Clin Exp Rheumatol. 1992;10:485-488.
10. Weinrich MC, Maricq HR, Keil JE, McGregor AR, Diat F. Prevalence of Raynaud's phenomenon in the adult population of South Carolina. J Clin Epidemiol. 1990;12:1343.
11. Bollinger A. [Physiopathology of Raynaud's phenomenon]. Dtsch Med Wochenschr. 1982;107:1699-1701.

12. Arbeitsgruppe Sklerodermie. Arbeitsgruppe Sklerodermie: Klinik der progressiven systemischen Sklerodermie (PSS). *Hautarzt* 1986;37:320.
13. Caspary L, Schmees C, Schoetensack I, Hartung K, Stannat S, Deicher H et al. Alterations of the nailfold capillary morphology associated with Raynaud phenomenon in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1991;18:559-566.
14. Olsen N. Diagnostic aspects of vibration-induced white finger. *Int Arch Occup Environ Health.* 2002;75:6-13.
15. Liapina M, Tzvetkov D, Vodenitcharov E. Pathophysiology of vibration-induced white fingers-current opinion: a review. *Cent Eur J Public Health.* 2002;10:16-20.
16. Sprynger M. [Raynaud's phenomenon]. *Rev Med Liege* 2004;59:378-84.
17. Portig I, Maisch B. [Noninvasive methods in the diagnosis of macro- and microangiopathy of peripheral and carotid arteries]. *Herz* 2004;29:17-25.
18. Maricq HR. Microangiopathy in systemic scleroderma and related disorders. *Int Angiol.* 1983;2:119.
19. Leyhe A. Die Kapillarmikroskopie in der Differentialdiagnose der systemischen Sklerodermie. *Akt Rheumatol.* 1989;14:106.
20. Maricq HR, Harper FE, Khan MM, Tan EM, LeRoy EC. Microvascular abnormalities as possible predictors of disease subsets in Raynaud phenomenon and early connective tissue disease. *Clin Exp Rheumatol* 1983;3:195-205.
21. Chen ZY, Silver RM, Ainsworth SK, Dobson RL, Rust P, Maricq HR. Association between fluorescent antinuclear antibodies, capillary patterns, and clinical features in scleroderma spectrum disorders. *Am J Med.* 1984;77:812-822.
22. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2000;27:155–160.
23. Caccavo D, Del PF, Garzia P, Mitterhofer AP, Galluzzo S, Rigon A et al. Raynaud's phenomenon and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus: is there an association? *Ann Rheum Dis.* 2003;62:1003-1005.
24. Zeni S, Ingegnoli F. [Raynaud's phenomenon]. *Reumatismo* 2004;56:77-81.

25. Mahler F. [Raynaud's syndrome: diagnosis and therapy]. *Ther Umsch.* 1985;42:671-677.
26. Herrick AL. Pathogenesis of Raynaud's phenomenon. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:587-596.
27. Kirchengast M, Münter K. Endothelin-1 and endothelin receptor antagonists in cardiovascular remodeling. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;221:312-325.
28. Zamora MR, O'Brien RF, Rutherford RB, Weil JV. Serum endothelin-1 concentrations and cold provocation in primary Raynaud's phenomenon. *Lancet* 1990;336:1144-1147.
29. Leppert J, Ringqvist A, Karlberg BE, Ringqvist I. Whole-body cooling increases plasma endothelin-1 levels in women with primary Raynaud's phenomenon. *Clin Physiol.* 1998;18:420-425.
30. Smyth AE, Bell AL, Bruce IN, McGrann S, Allen JA. Digital vascular responses and serum endothelin-1 concentrations in primary and secondary Raynaud's phenomenon. *Ann Rheum Dis.* 2000;59:870-874.
31. Kahaleh MB. Raynaud phenomenon and the vascular disease in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol.* 2004;16:718-722.
32. Chatterjee S. Management of Raynaud's Phenomenon in the Patient with Connective Tissue Disease. *Curr Treat Options Cardiovasc Med.* 2010;12:185-204.
33. Takeuchi T, Futatsuka M, Imanishi H, Yamada S. Pathological changes observed in the finger biopsy of patients with vibration-induced white finger. *Scand J Work Environ Health.* 1986;12(4 Spec No):280-283.
34. Littleford RC, Khan F, Hindley MO, Ho M, Belch JJ. Microvascular abnormalities in patients with vibration white finger. *QJM.* 1997;90:525-529.
35. Taylor W. Vibration white finger: a newly prescribed disease. *Br Med J.* 1985;291: 921-922.
36. Lambert M, Hatron PY, Hachulla E, Devulder B. Hypothenar hammer syndrome followed by systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2000;27:2516-2517.
37. Wouda AA, Kallenberg CG, Wesseling H, Banga JD. Raynaud's phenomenon. *Vasa Suppl* 1985;16:18.

38. Generini S, Del RA, Pignone A, Matucci CM. Current Treatment Options in Raynaud's Phenomenon. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2003;5:147-161.
39. Wollersheim H, Cleophas T, Thien T. The role of the sympathetic nervous system in the pathophysiology and therapy of Raynaud's phenomenon. *Vasa Suppl* 1987;18:54-63.
40. Freedman RR, Sabharwal SC, Desai N, Wenig P, Mayes M. Increased alpha-adrenergic responsiveness in idiopathic Raynaud's disease. *Arthritis Rheum*. 1989;32:61-65.
41. Flavahan NA, Flavahan S, Liu Q, Wu S, Tidmore W, Wiener CM, Spence RJ, Wigley FM. Increased alpha2-adrenergic constriction of isolated arterioles in diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum*. 2000;43:1886-1890.
42. Ekenvall L, Lindblad LE. Is vibration white finger a primary sympathetic nerve injury? *Br J Ind Med*. 1986;43:702-706.
43. Bunker CB, Terenghi G, Springall DR, Polak JM, Dowd PM. Deficiency of calcitonin gene-related peptide in Raynaud's phenomenon. *Lancet* 1990;336:1530-1533.
44. Silveri F, De Angelis R, Poggi A, Muti S, Bonapace G, Argentati F, Cervini C. Relative roles of endothelial cell damage and platelet activation in primary Raynaud's phenomenon (RP) and RP secondary to systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol*. 2001;30:290-296.
45. Pauling JD, O'Donnell VB, Mchugh NJ. The contribution of platelets to the pathogenesis of Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Platelets*. 2013;24:503-515.
46. Weyrich AS, Lindemann S, Zimmerman GA. The evolving role of platelets in inflammation. *J Thromb Haemost*. 2003;9:1897-1905.
47. Henn V, Slupsky JR, Gräfe M, Anagnostopoulos I, Förster R, Müller-Berghaus G, Kroczeck RA. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature*. 1998;391:591-594.
48. Postlethwaite AE, Chiang TM. Platelet contributions to the pathogenesis of systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2007;19:574-579.

49. Lev PR, Salim JP, Marta RF, Osorio MJ, Goette NP, Molinas FC. Platelets possess functional TGF-beta receptors and Smad2 protein. *Platelets*. 2007;18:35-42.
50. Liakouli V, Cipriani P, Marrelli A, Alvaro S, Ruscitti P, Giacomelli R. Angiogenic cytokines and growth factors in systemic sclerosis. *Autoimmun Rev*. 2011;10:590-594.
51. Lau CS, McLaren M, Saniabadi A, Belch JJ. Increased whole blood platelet aggregation in patients with Raynaud's phenomenon with or without systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol*. 1993;22:97-101.
52. Bath PM and Butterworth RJ. Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996;7:157-161.
53. Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mikhailidis DP, Kitis GD. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation? *Curr Pharm Des*. 2011;17:47-58.
54. Kappelmayer J, Nagy B, Jr., Miszti-Blasius K, Hevessy Z, Setiadi H. The emerging value of P-selectin as a disease marker. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42:475-486.
55. Mannaioni PF, Di Bello MG, Masini E. Platelets and inflammation: role of platelet-derived growth factor, adhesion molecules and histamine. *Inflamm Res*. 1997;46:4-18.
56. Huczek Z, Kochman J, Filipiak KJ, Horszczaruk GJ, Grabowski M, Piatkowski R, Wilczynska J, Zielinski A, Meier B, Opolski G. Mean platelet volume on admission predicts impaired reperfusion and long-term mortality in acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46:284-290.
57. Tschoepe D, Roesen P, Esser J, Schwippert B, Nieuwenhuis HK, Kehrel B, Gries FA. Large platelets circulate in an activated state in diabetes mellitus. *Semin Thromb Hemost*. 1991;17:433-438.
58. Davi G, Romano M, Mezzetti A, Procopio A, Iacobelli S, Antidormi T, Bucciarelli T, Alessandrini P, Cuccurullo F, Bittolo Bon G. Increased levels of soluble P-selectin in hypercholesterolemic patients. *Circulation* 1998;97:953-957.

59. Garbaraviciene J, Diehl S, Varwig D, Bylaite M, Ackermann H, Ludwig RJ, Boehncke WH. Platelet P-selectin reflects a state of cutaneous inflammation: possible application to monitor treatment efficacy in psoriasis. *Exp Dermatol*. 2010;19:736-741.
60. Gasparyan AY, Stavropoulos-Kalinoglou A, Toms TE, Douglas KM, Kitis GD. Association of mean platelet volume with hypertension in rheumatoid arthritis. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2010;9:45-50.
61. Herrick AL, Illingworth K, Blann A, Hay CR, Hollis S, Jayson MI. Von Willebrand factor, thrombomodulin, thromboxane, beta-thromboglobulin and markers of fibrinolysis in primary Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 1996;55:122-127.
62. Lau CS, McLaren M, Mackay I, Belch JJ. Baseline plasma fibrinolysis and its correlation with clinical manifestations in patients with Raynaud's phenomenon. *Ann Rheum Dis*. 1993;52:443-448.
63. Ames PR, Lupoli S, Alves J, Atsumi T, Edwards C, Iannaccone L, Khamashta MA, Hughes GR, Brancaccio V. The coagulation/fibrinolysis balance in systemic sclerosis: evidence for a haematological stress syndrome. *Br J Rheumatol*. 1997;36:1045-1050.
64. Iannone F, Riccardi MT, Guiducci S, Bizzoca R, Cinelli M, Matucci-Cerinic M, Lapadula G. Bosentan regulates the expression of adhesion molecules on circulating T cells and serum soluble adhesion molecules in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension. *Ann Rheum Dis*. 2008;67:1121-1126.
65. Marasini B, Cugno M, Bassani C, Stanzani M, Bottasso B, Agostoni A. Tissue-type plasminogen activator and von Willebrand factor plasma levels as markers of endothelial involvement in patients with Raynaud's phenomenon. *Int J Microcirc Clin Exp*. 1992;11:375-382.
66. Marasini B, Casari S, Bestetti A, Maioli C, Cugno M, Zeni S, Turri O, Guagnellini E, Biondi ML. Homocysteine concentration in primary and systemic sclerosis associated Raynaud's phenomenon. *J Rheumatol*. 2000;27:2621-2623.

67. Raife TJ, Lentz SR, Atkinson BS, Vesely SK and Hessner MJ .Factor V Leiden: a genetic risk factor for thrombotic microangiopathy in patients with normal von Willebrand factor-cleaving protease activity. *Blood* 2002;99:437-442.
68. Foka ZJ, Lambropoulos AF, Saravelos H, Karas GB, Karavida A, Agorastos T, Zournatzi V, Makris PE, Bontis J, Kotsis A. Factor V leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod.* 2000;15:458-462.
69. Cattaneo M, Chantarangkul V, Taioli E, Santos JH, Tagliabue L. The G20210A mutation of the prothrombin gene in patients with previous first episodes of deep-vein thrombosis: prevalence and association with factor V G1691A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T and plasma prothrombin levels. *Thromb Res.* 1999;93:1-8.
70. Hanson NQ, Aras O, Yang F, Tsai MY. C677T and A1298C polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene: incidence and effect of combined genotypes on plasma fasting and post-methionine load homocysteine in vascular disease. *Clin Chem.* 2001;47:661-666.
71. al-Awami M, Schillinger M, Maca T, Gschwandtner M, Bieglmayer C, Wagner O, Minar E. Homocysteine levels in patients with Raynaud's phenomenon. *Vasa* 2002;31:87-90.
72. Shemirani AH, Pongracz E, Antalfi B, Adany R, Muszbek L. Factor XIII A subunit Val34Leu polymorphism in patients suffering atherothrombotic ischemic stroke. *Thromb Res.* 2010;126:159-162.
73. Stovner LJ, Andree C. Prevalence of headache in Europe: a review for the Eurolight project. *J Headache Pain.* 2010;11:289-299.
74. Davidoff RA. Clinical aspects of migraine – Epidemiology - Comorbidity. In: Davidoff RA (editor): *Migraine: Manifestations, Pathophysiology, and Management*, Second Edition. p20-24. Oxford University Press. Oxford, United Kingdom, 2002.
75. Pietrobon D, Striessnig J. Neurobiology of migraine. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4:386-398.

76. Tedeschi G, Russo A, Tessitore A. Relevance of functional neuroimaging studies for understanding migraine mechanisms. *Expert Rev Neurother.* 2013;13:275-285.
77. Bowling JC, Dowd PM. Raynaud's disease. *Lancet* 2003;361:2078-2080.
78. Wigley FM. Clinical practice. Raynaud's Phenomenon. *N Engl J Med.* 2002;347:1001-1008.
79. Shemirani AH, Muszbek L. Rapid detection of the factor XIII Val34Leu (163 G->T) polymorphism by real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer detection and melting curve analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42:877-879.
80. von Ahsen N, Schütz E, Armstrong VW, Oellerich M. Rapid detection of prothrombotic mutations of prothrombin (G20210A), factor V (G1691A), and methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) by real-time fluorescence PCR with the LightCycler. *Clin Chem.* 1999;45:694-696.
81. Polidoro L, Barnabei R, Giorgini P, Petrazzi L, Ferri C, Properzi G. Platelet activation in patients with the Raynaud's Phenomenon. *Intern Med J.* 2012;42:531-535.
82. Oyabu C, Morinobu A, Sugiyama D, Saegusa J, Tanaka S, Morinobu S, Tsuji G, Kasagi S, Kawano S, Kumagai S. Plasma Platelet-derived Microparticles in Patients with Connective Tissue Diseases. *J Rheumatol.* 2011;38:680-684.
83. Pamuk GE, Turgut B, Pamuk ON, Vural O, Demir M, Cakir N. Increased circulating platelet-leucocyte complexes in patients with primary Raynaud's phenomenon and Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis: a comparative study. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2007;18:297-302.
84. Nigrovic PA, Fuhlbrigge RC, Sundel RP. Raynaud's phenomenon in children: a retrospective review of 123 patients. *Pediatrics* 2003;111:715-721.
85. Gasparyan AY, Stavropoulos-Kalinoglou A, Mikhailidis DP, Douglas KM, Kitas GD. Platelet function in rheumatoid arthritis: arthritic and cardiovascular implications. *Rheumatol Int.* 2011;31:153-164.
86. Bath P, Algert C, Chapman N, Neal B. Association of mean platelet volume with risk of stroke among 3134 individuals with history of cerebrovascular disease. *Stroke* 2004;35:622-626.

87. Berger JS, Eraso LH, Xie D, Sha D, Mohler ER, 3rd Mean platelet volume and prevalence of peripheral artery disease, the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2004. *Atherosclerosis* 2010;213:586-591.
88. Milovanovic M, Nilsson E, Jaremo P. Relationships between platelets and inflammatory markers in rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta*. 2004;343:237-240.
89. Kisacik B, Tufan A, Kalyoncu U, Karadag O, Akdogan A, Ozturk MA, Kiraz S, Ertenli I, Calguneri M. Mean platelet volume (MPV) as an inflammatory marker in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2008;75:291-294.
90. Yazici S, Yazici M, Erer B, Calik Y, Ozhan H, Ataoglu S. The platelet indices in patients with rheumatoid arthritis: mean platelet volume reflects disease activity. *Platelets* 2010;21:122-125.
91. Nilsson TK, Johnson O. The extrinsic fibrinolytic system in survivors of myocardial infarction. *Thromb Res*. 1987;48:621-630.
92. Herak DC, Antolic MR, Krleza JL, Pavic M, Dodig S, Duranovic V, Brkic AB, Zadro R. Inherited prothrombotic risk factors in children with stroke, transient ischemic attack, or migraine. *Pediatrics* 2009;123:e653-660.
93. Bottini F, Celle ME, Calevo MG, Amato S, Minniti G, Montaldi L, Di Pasquale D, Cerone R, Veneselli E, Molinari AC Metabolic and genetic risk factors for migraine in children. *Cephalalgia* 2006;26:731-737.
94. Moschiano F, D'Amico D, Ciusani E, Erba N, Rigamonti A, Schieroni F, Bussone G. Coagulation abnormalities in migraine and ischaemic cerebrovascular disease: a link between migraine and ischaemic stroke? *Neurol Sci* 2004;25 Suppl 3:S126-128.
95. Corral J, Iniesta JA, Gonzalez-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, Vicente V. Migraine and prothrombotic genetic risk factors. *Cephalalgia* 1998;18:257-260.
96. Iniesta JA, Corral J, Gonzalez-Conejero R, Diaz Ortuno A, Martinez Navarro ML, Vicente V. Role of factor XIII Val 34 Leu polymorphism in patients with migraine. *Cephalalgia* 2001;21:837-841.
97. Parsons AA, Strijbos PJ. The neuronal versus vascular hypothesis of migraine and cortical spreading depression. *Curr Opin Pharmacol*. 2003;3:73-77.

98. Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, Frosst P, Selhub J, Horsford J, Malinow MR, Willett WC, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation* 1996;94:2410-2416.
99. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med*. 1991;324:1149-1155.
100. Chang PY, Lu SC, Lee CM, Chen YJ, Dugan TA, Huang WH, Chang SF, Liao WS, Chen CH, Lee YT. Homocysteine inhibits arterial endothelial cell growth through transcriptional downregulation of fibroblast growth factor-2 involving G protein and DNA methylation. *Circ Res*. 2008;102:933-941.
101. Zhang F, Slungaard A, Vercellotti GM, Iadecola C. Superoxide-dependent cerebrovascular effects of homocysteine. *Am J Physiol*. 1998;274:R1704-1711.
102. Zhang R, Ma J, Xia M, Zhu H, Ling W. Mild hyperhomocysteinemia induced by feeding rats diets rich in methionine or deficient in folate promotes early atherosclerotic inflammatory processes. *J Nutr*. 2004;134:825-830.
103. Lazzerini PE, Capecchi PL, Bisogno S, Cozzalupi M, Rossi PC, Pasini FL. Homocysteine and Raynaud's phenomenon: a review. *Autoimmun Rev*. 2010;9:181-187.
104. Sibrian-Vazquez M, Escobedo JO, Lim S, Samoei GK, Strongin RM. Homocystamides promote free-radical and oxidative damage to proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:551-554.
105. Shemirani AH, Szomják E, Balogh E, András C, Kovács D, Acs J, Csiki Z. Polymorphism of clotting factors in Hungarian patients with Raynaud's phenomenon. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2011;22:56-59.
106. Liu R, Geng P, Ma M, Yu S, Yang M, He M, Dong Z, Zhang W. MTHFR C677T polymorphism and migraine risk: a meta-analysis. *J Neurol Sci*. 2014;336:68-73.
107. Lazzerini PE, Capecchi PL, Bisogno S, Cozzalupi M, Rossi PC, Pasini FL. Homocysteine and Raynaud's phenomenon: a review. *Autoimmun Rev*. 2010;9:181-187.

9. TÁRGYSZAVAK

Raynaud-szindróma, vérlemezke, von Willebrand faktor, fibrinogén, genetikai polimorfizmus, migrén

KEYWORDS

Raynaud's syndrome, platelet, von Willebrand factor, fibrinogen, genetical polymorphism, migraine

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom Dr. Harsányi László intézetigazgatónak, egyetemi tanárnak, aki lehetővé tette, hogy disszertációm megírásához és a cikkek alapjául szolgáló kutatásban a Debreceni Egyetemen részt vehessek. Munkámat mindvégig figyelemmel kísérte, segítette.

Ezúton köszönöm barátomnak és témavezetőmnek, Dr. Csiki Zoltán egyetemi docens úrnak a tudományos szakmai munkám irányítását, segítségét. Kitartó ösztönzése nélkülözhetetlen volt e munka megszületésében.

Köszönettel tartozom a DE OEC Klinikai Kutató Központ tudományos munkatársának, Dr. Amir Shemirani-nak Raynaud-szindrómás betegek adatainak összesítéséért, elemzéséért, a laboratóriumi módszerek megismertetéséért a kutatásban mind a módszerekben, mind a tudományos értékelésben számomra nyújtott meghatározó segítségéért.

E tanulmány nem készülhetett volna el atyai barátom, Dr. Monos Emil emeritus professzor folyamatos támogatása, építő kritikája, rendszerező képessége nélkül, aki minden esetben önzetlenül, gyakran szabadidejében is segítette munkámat.

Köszönetet mondok Hodosi Katalinnak, aki az adminisztratív feladatokban adott kifejezett segítséget.

Végezetül családomnak mondok köszönetet, akik szerető biztatásukkal végig mellettem álltak.

11. FÜGGELÉK

A Kenézy Élettudományi Könyvtár igazolása, illetve az értekezés alapjául szolgáló,
impakt faktoral rendelkező saját publikációk és kéziratok gyűjteménye



Nyilvántartási szám: DEENK/27/2016.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Takáts Alajos

Neptun kód: BRCAN7

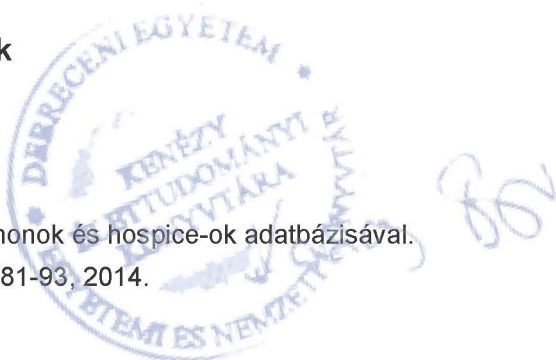
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Takáts, A.T.**, Shemirani, A., Zsóri, K.S., András, C., Csiki, Z.: Association of von Willebrand factor and fibrinogen plasma levels with primary Raynaud's phenomenon in male and female patients.
Rheumatol. Int. 33 (4), 1083-1084, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00296-011-2236-9>
IF:1.627
2. **Takáts, A.T.**, Shemirani, A., Zsóri, K.S., András, C., Csiki, Z.: Prothrombotic polymorphisms in patients with Raynaud's phenomenon and migraine.
Acta Physiol. Hung. 99 (4), 430-435, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/APhysiol.99.2012.4.7>
IF:0.882
3. Shemirani, A., Nagy, B., **Takáts, A.**, Zsóri, K.S., András, C., Kappelmayer, J., Csiki, Z.: Increased mean platelet volume in primary Raynaud's phenomenon.
Platelets. 23 (4), 312-316, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/09537104.2011.618563>
IF:2.24

További közlemények

4. **Takáts A.**: Gasztronterológiai betegek kezelése időskorban.
In: Idősgondozási kézikönyv - A magyarországi időotthonok és hospice-ok adatbázisával.
Szerk.: Boga Bálint, Geriáter Service Kiadó, Budapest, 81-93, 2014.





5. **Takáts A.**, Garai I., Papp G., Hevér T., Csiki E., András C., Csiki Z.: Raynaud-szindróma, 2011.
Orv. Hetil. 153 (11), 403-409, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2012.29321>
6. Csiki Z., Zeher M., Papp G., András C., **Takáts A.**, Csiki E.: Pre- pro- és szinbiotikumok szerepe, kedvező élettani hatásai.
Metabolizmus. 8 (5), 294-299, 2010.
7. Tari K., Lukovich P., Morvay K., **Takáts A.**, Wacha J., Öreg Z., Kupcsulik P.: A colonosopos vizsgálat előkészítése: Létezik-e betegbarát módszer?
Praxis. 16 (11), 869-875, 2007.
8. Egri, G., **Takáts, A.**: Monoclonal antibodies in the treatment of lung cancer.
Eur. J. Sur. Oncol. 32 (4), 385-394, 2006.
IF:1.873
9. Lukovich P., Lakatos P.L., Keresztes K., Wacha J., **Takáts A.**, Morvay K., Tari K., Kupcsulik P.:
Piecemeal technika alkalmazása nagy rectosigmoidealis polypusok eltávolítására.
Orv. Hetil. 147 (47), 2261-2264, 2006.
10. Novák J., Csiki Z., Sebesi J., **Takáts A.**, Demeter P., Sipka S.: Helicobacter pylori-ellenes antitestszint-emelkedés Schönlem-Henoch-puipurában.
Orv. Hetil. 144 (6), 263-267, 2003.
11. Novák, J., Szekanecz, Z., Sebesi, J., **Takáts, A.**, Demeter, P., Bene, L., Sipka, S., Csiki, Z.:
Elevated levels of anti-Helicobacter pylori antibodies in Henoch-Schonlein purpura.
Autoimmunity. 36 (5), 307-311, 2003.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/08916930232000114535>
IF:1.052
12. Novák, J., Marki-Zay, J., Csiki, Z., Sebesi, J., **Takáts, A.**, Sipka, S.: Die Schoenlein-Henoch-Purpura bei Erwachsenen (Gastrointestinale Manifestationen und Endoscopie).
Z. Gastroenterol. 39 (9), 775-782, 2001.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-2001-17195>
IF:0.803
13. Márk G., **Takáts A.**, Penyige J., Gerő G., Szentmihályi A., Molnár G.: Ciprobay (ciprofloxacin) és doxycyclin összehasonlítása helicobacter pylori pozitív betegek kezelésében (metronidazol és bizmut-subsalic. kombinációban).
Gyógyszereink. 44 (1), 11-16, 1994.



14. Rákóczy G., Márk G., **Takáts A.**, Szentmihályi A., Joós Á.: Helicobacter előfordulása
Helicobacter pylori pozitív szülők gyermekeinél.
Orv. Hetil. 134 (5), 239-240, 1993.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 8,477

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
4,749**

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

Debrecen, 2016.03.10.

