

# **Plazmaenzimrendszerek és neutrofil granulociták vizsgálata C1-inhibitor hiányában kialakuló hereditár angioödémában**

Doktori tézisek

**Veszeli Nóra**

Semmelweis Egyetem  
Elméleti és Transzlációs orvostudományok Doktori Iskola



- Témavezető: Dr. Farkas Henriette, az MTA doktora, egyetemi tanár,  
Dr. Varga Lilian, Ph.D., tudományos főmunkatárs
- Hivatalos bírálók: Dr. Sármay Gabriella, az MTA doktora, egyetemi tanár,  
Dr. Krasznai Magdolna, Ph.D, egyetemi adjunktus
- Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Buzás Edit, az MTA doktora, egyetemi tanár  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Erdei Anna, az MTA tagja, egyetemi tanár  
Dr. Komorowicz Erzsébet, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest  
2018

# 1. Bevezetés

## 1.1 A C1-inhibitor hiányában kialakuló hereditár angioödéma

A C1-inhibitor (C1-INH) hiányában kialakuló hereditár angioödéma (C1-INH-HAE) egy ritka (becsült gyakorisága: 1/10.000-1/50.000), autoszomális domináns módon öröklődő kórkép. A betegséget epizódikusan visszatérő, szubkután és/vagy szubmukózos lokalizációjú angioödémák jellemzik. A szubkután ödémák leggyakrabban a végtagokon, törzsön, arcon vagy a nemiszerveken jelentkeznek, megjelenésüket fájdalom, viszketés, illetve urtikária nem kíséri. A szubmukózos lokalizációjú ödémák közül a gyomor-béltraktus nyálkahártyáját érintő ödémát gyakran görcsös hasi fájdalom, hányinger, hányás kíséri. Ritkábban előforduló a felső légutakat érintő ödéma, amely ugyanakkor életveszélyes állapothoz, akár fulladáshoz is vezethet. A közvetlen életveszélyt nem okozó ödémák kezelés nélkül is elmúlnak 2-5 napon belül. Az első angioödémás tünetek megjelenésének ideje, az ödémás tünetek gyakorisága, súlyossága betegenként változó, és még ugyanazon családon és egyénen belül is nagy eltérést mutathat.

A betegek többségében az ödémás tünetek kialakulását megelőzően gyakran prodromális tünetek jelentkeznek, melyek közül a legspecifikusabb, objektív tünet az ún. erythema marginatum. Meg kell említeni ugyanakkor, hogy a prodromális tünetek jelenlétét nem minden esetben követi ödémás roham kialakulása.

A betegség hátterében a szerpinek (szerin-proteáz inhibitorok) szupercsaládjába tartozó, erősen glikozilált, 478 aminosavból álló glikoprotein, a C1-INH heterozigóta deficienciája áll. A C1-INH-HAE két típusát különítjük el, mindkettőben csökkent a C1-INH funkcionális aktivitása. Azonban míg C1-INH-HAE I-es típusában a mutáció következtében a mutáns génről nem termelődik C1-INH, emiatt a vérben a fehérje szintje csökkent, addig a C1-INH-HAE II-es

típusában a normál fehérje mellett termelődik mutáns fehérje is, azonban ez funkcióképtelen.

A C1-INH, más inhibitorokkal együttműködve képes gátolni a komplement-, koagulációs, fibrinolitikus és a kontakt-kinin rendszer egyes szerin-proteázait, ezáltal megakadályozva a különböző rendszerek aktiválódását és így proinflammatorikus és érpermeabilitást fokozó mediátorok felszabadulását.

A jelenlegi ismeretek alapján a fokozott bradikinin felszabadulás eredményeként bekövetkező érpermeabilitás-növekedés áll az ödémás rohamok kialakulásának hátterében, azonban az ödémás roham kialakulásának, lefolyásának pontos biológiai háttere még nem ismert. Az ödémás roham patomechanizmusának megértését célzó vizsgálatok a betegek tünetmentes periódusban és ödémás rohamok során egyszeri időpontban levett vérmintákban mért értékek összehasonlításán alapulnak. Az irodalomban számos, a patomechanizmusra vonatkozó ellentmondó eredményt találunk, aminek okai lehetnek, hogy legtöbbször nagyon kis esetszámú (5-10 beteg) vizsgálatok alapján vontak le következtetéseket, illetve gyakran nem ugyanannak a betegnek a tünetmentes és ödémás roham alatt levett vérmintáit hasonlították össze. További információt nyerhetünk, ha az egyes laboratóriumi paraméterek kinetikáját nyomon tudjuk követni egy-egy ödémás roham alatt, a rohamot megelőző tünetmentes állapottól kiindulva az ödéma teljes elmúlásáig.

Doktori munkám célja az ödémás rohamok patomechanizmusának pontosabb megismerése volt, ugyanis a mai napig nem, vagy csak alig vizsgálták, hogyan járulhatnak hozzá a C1-INH hiányában érintett plazmaenzimrendszerek az ödémás tünetek kialakulásához és/vagy lefolyásához.

## **1.2. A komplementrendszer összefüggései a C1-INH-HAE ödémás rohamok patomechanizmusával**

A C1-INH funkcionális aktivitását tekintve az irodalomban ellentmondó eredményeket találunk, egyaránt leírtak ödémás rohamok alatti aktivitás-emelkedést, illetve -csökkenést is. Munkacsoportunk korábban azt találta, hogy

kezelésben még nem részesült betegekben a C1-INH diagnóziskor mért funkcionális aktivitása korrelál a betegség súlyosságával, és előre jelezheti a várható rohamgyakoriságot. Ehhez hasonló megfigyelésünk volt az is, hogy a C1/C1-INH komplex szintje előre jelezheti a betegség várható súlyosságát, valamint az ödémás rohamok alatt szintjében emelkedés mutatkozott a tünetmentes periódushoz képest, így ez a paraméter az ödémás rohamok alatti korai komplement-aktiváció szenzitív markere lehet. Munkacsoportunkban *Csuka és munkatársai* emelkedett MASP-2 koncentrációt és fikolin-3/MASP-2 komplex szinteket mértek ödémás rohamok során, amely a fikolin-lektin útvonal aktiválódására utal ödémás rohamok során. A C3, C5a esetében nem volt különbség a tünetmentes állapotban és ödémás rohamok során levett vérmintákban, ugyanakkor emelkedett terminális komplement komplex (TCC) szintet és csökkent fikolin-3-mediált TCC lerakódást tapasztaltak ödémás rohamok során.

### **1.3. A koagulációs és fibrinolitikus rendszer összefüggései a C1-INH-HAE ödémás rohamok patomechanizmusában**

Az eddigi koagulációs és fibrinolitikus rendszerekkel kapcsolatos eredmények jellemzően kis esetszámú, nem önkontrollált vizsgálatokból születtek. A koaguláció folyamatában elsődleges fontosságú enzim, a VII-es faktor emelkedett szintjét figyelték meg C1-INH-HAE ödémás rohamok alatt a tünetmentes periódushoz képest. A trombin keletkezésére utaló protrombin fragmens 1+2 (F1+2) szint ugyancsak emelkedett volt ödémás rohamok során, ugyanakkor a trombin-anti-trombin (TAT)-komplex szint emelkedését is leírták. A FXI-es faktor (FXI) szintjét ödémás rohamok alatt még egy munkacsoport sem vizsgálta, de C1-INH-HAE tünetmentes és egészséges egyénekből származó vérminták összehasonlítása alapján nem találtak különbséget a szintjében. A koagulációs rendszer aktiválódása mellett a rohamok során emelkedett plazmin-anti-plazmin komplex és D-dimer szint a fibrinolitikus rendszer aktiváltságára utal ödémás rohamok során. Mindezek ellenére a C1-

INH-HAE betegek esetében nem írtak le fokozott trombólízisra való hajlamot. *Cugno és munkatársai* azonban nem találtak szignifikáns emelkedést rohamok során a D-dimer szintjében.

#### **1.4. Neutrofil granulociták összefüggései a C1-INH-HAE ödémás rohamok patomechanizmusával**

Korábban számos esetismertetésben beszámoltak róla, hogy ödémás roham során a fehérvérsejt-, illetve neutrofil granulocita szám emelkedik.

Munkacsoportunk 2010-ben 18 C1-INH-HAE beteg vizsgálatával publikálta, hogy ödémás rohamok során a fehérvérsejt- és neutrofil sejtszám emelkedett, amely megerősítette a korábbi megfigyeléseket. Azt is kimutattuk, hogy a neutrofil sejtszám emelkedése a rohamok során magasabb, mint ami csupán a hemokoncentrációból adódhatott volna.

A neutrofil granulociták esetleges szerepét a C1-INH-HAE patomechanizmusában nem vizsgálták, annak ellenére, hogy ezen sejtek funkciói számos ponton kapcsolatba hozhatóak az ödémás rohamok patofiziológiájával. A neutrofil granulociták aktivációját citokinek, illetve bakteriális termékek mellett a plazmaenzimrendszerek egyes komponensei is kiválthatják, illetve regulálhatják, mint például a plazma kallikrein, C3a, C5a, H faktor. A sejtek aktivációjakor felszabaduló neutrofil elasztáz (NE) képes hasítani és inaktiválni a C1-INH-t, ezáltal hozzájárulhat a nem kielégítő szabályozás további romlásához, és így az ödémás rohamok kialakulásához. A sejtek aktiválódása neutrofil extracelluláris trap-ek képződését is eredményezheti, amelynek negatívan töltött felszíne lehetővé teszi a kontakt-kininrendszer aktivációját. Ugyanakkor leírták, hogy a neutrofil granulociták sejtmembránjának felszínén is megvalósulhat kininek (bradikinin, kallidin) felszabadulása, FXII-mediált aktiváció révén, vagy neutrofil granulocitákból származó szöveti kallikrein felszabadulása útján.

Felvetődik a lehetősége, hogy a C1-INH-HAE ödémás rohamok patomechanizmusa háttérben neutrofil granulocitákat is érintő aktív folyamat zajlik. Munkánk során ennek lehetőségét elsőként vizsgáltuk.

## **2. Célkitűzés**

### **2.1. A koagulációs, fibrinolitikus és kontaktrendszer változásainak egyidejű, átfogó vizsgálata C1-INH-HAE-ban**

Korábbi tanulmányokban az ödémás rohamok során a különböző plazmaenzimrendszerekben bekövetkező változásokat többnyire az egyes rendszerek külön-külön történő vizsgálatával próbálták meghatározni. Ezen munkák eredményei azonban korlátozott értékűek, mivel egyrészt kis esetszámú vizsgálatok voltak, másrészt sokszor a „tünetmentes” és „rohamos” vérminták nem ugyanazon betegektől származtak.

A korábbi tanulmányokban az ödémás rohamok során meghatározott paraméterek - FXIIa, F1+2, TAT-komplex, D-dimer, protrombin idő (PI) - mellett eddig nem vizsgált paraméterek –FXI, fibrinogén, plazminogén és aktivált parciális tromboplasztin idő (aPTI) – mérésével kerestük az alábbi kérdésekre a választ:

1. Van-e változás a plazmaenzimrendszerek működésében C1-INH-HAE roham alatt, a tünetmentes időszakhoz képest?

Ezen plazmaenzimrendszerek egyidejű vizsgálata által érdekes lehet annak megfigyelése, hogy:

2. Milyen összefüggést mutatnak az egyes plazmaenzimrendszerek paraméterei az adott rendszeren belül, a betegek tünetmentes állapotában illetve ödémás roham alatt?

Mivel az ödémás rohamok nagy variabilitást mutatnak lokalizációjukat tekintve, és gyakran előfordulnak multilokalizációjú rohamok is, ezért a következő kérdés fogalmazódott meg bennünk:

3. Van e különbség az általunk vizsgált paraméterek szintjeiben a különböző ödéma lokalizációk, illetve az egy vagy több lokalizációt is

érintő ödémás rohamok között? Milyen interindividuális és intraindividuális különbségeket mutatnak az egyes paraméterek az ödémás rohamok tekintetében?

Egy önként vállalkozó betegünk bevonásával, akinek gyakran voltak ödémás rohamai, egyedülálló lehetőségünk nyílt, hogy elsőként kövessünk nyomon egy spontán lefolyású ödémás rohamot – a rohamot megelőző tünetmentes állapottól, az ödémás tünetek teljes elmúlásáig. Ennek során az alábbi fontos kérdések vetődtek fel:

4. A plazmaenzimrendszerekben bekövetkező változások megelőzik az ödémás roham kialakulását, vagy azzal egy időben zajlanak le?
5. Milyen összefüggést mutatnak az egyes paraméterek változásai a klinikai tünetekkel?

## **2.2. Neutrofil granulociták vizsgálata C1-INH-HAE-ban**

Munkánk során először vizsgáltuk a neutrofil granulociták feltételezett részvételét a C1-INH-HAE patomechanizmusában, miután korábban munkacsoportunk emelkedett neutrofil granulocita számot figyelt meg ödémás rohamok során. Első körben nagyobb esetszám bevonásával az alábbi kérdésre kerestük a választ:

1. Figyelembe véve a hemokoncentráció mértékét, valóban emelkedik-e ödémás rohamok során a neutrofil granulocita szám?

A neutrofilek aktiválódása során felszabaduló aktivációs markerek (NE, mieloperoxidáz (MPO), pentraxin 3 (PTX3)), valamint a sejtek aktiválódására ható citokinek (IL-8, TNF- $\alpha$ ), komplementfaktorok (H faktor, C5a) és CRP meghatározása által a következő kérdéseket tettük fel:

2. Aktiválódnak-e a neutrofil granulociták a C1-INH-HAE ödémás rohamok során?
3. Milyen összefüggést mutatnak egymással a mért paraméterek a betegek tünetmentes állapotában, illetve ödémás rohamok során?

Egy C1-INH-HAE betegünk spontán lefolyású ödémás rohamának nyomonkövetése kapcsán a neutrofil granulocita szám és neutrofil aktivációs markerek meghatározása által az alábbi kérdést tettük fel:

4. Megelőzi-e a neutrofil sejtszám emelkedés és aktiváció az ödémás roham kialakulását, vagy azzal párhuzamosan megy végbe?

### **2.3. A C1-INH hiány közvetlen következményeinek vizsgálata egy C1-INH-HAE ödémás roham lefolyásának nyomon követése során**

Bár kézenfekvőnek tűnhet, hogy egy C1-INH hiányos kórképben a C1-INH szint és a klinikai tünetek között összefüggés áll fent, ezzel kapcsolatban kevés vizsgálat történt. A spontán lefolyású ödémás roham nyomonkövetése során a C1-INH szint változásait vetettük össze a klinikai tünetekkel, hogy választ kapjunk a következő kérdéseinkre:

1. A C1-INH szint mutat-e összefüggést az ödémás tünetek kialakulásával illetve azok megszűnésével?

Mivel a C1-INH kizárólagos regulátora a C1r és C1s szerin-proteázoknak, hiányának következményeit a klasszikus út paramétereinek (C1q, C1s, C1s, C4, C4a) vizsgálatával elemeztük.

2. Megfigyelhető-e a komplementrendszer klasszikus útvonalának aktivációja?

A komplementrendszerben központi szerepet betöltő C3 komponensnek a hasítása során keletkező C3a aktivációs terméknek, valamint a terminális útvonal aktivációs termékeinek (C5a, TCC) tanulmányozásával tisztázni szeretnénk volna, hogy:

3. A C1-INH hiány hatásai kiterjednek-e a C3 komponens hasítására és a komplement kaszkád aktiválódásának azt követő lépéseire?



### **3. Módszerek**

#### **3.1. A vizsgált betegcsoport és a kontrollok**

Vizsgálatainkba az Országos Angioödéma Központban 2008 és 2015 között nyilvántartott 165 C1-INH-HAE beteg közül, azokat a betegeket vontuk be, akiktől lehetőségünk volt ödémás rohamok során is vérminta vételére. Összesen 43 betegről, 87 ödémás roham alatti vérmintát vizsgáltunk. Disszertációm három tanulmányon alapszik:

- 1) Plazmaenzimrendszerek vizsgálata C1-INH-HAE-ban,
- 2) Neutrofil granulociták vizsgálata C1-INH-HAE-ban, illetve
- 3) Egy C1-INH-HAE beteg ödémás rohamának nyomkövetése.

A bevont betegek között vannak átfedések, az áttekinthetőség kedvéért a három tanulmányra vonatkozó betegadatokat külön mutatom be.

##### ***3.1.1. Plazmaenzimrendszerek vizsgálatába bevont C1-INH-HAE betegek és egészséges kontroll egyének***

A vizsgálatba 39 C1-INH-HAE beteget (12 férfi és 27 nő, medián életkor 35 év, 33 beteg tartozott a C1-INH-HAE I-es típusba és 6 beteg tartozott a C1-INH-HAE II-es típusba) és 40 egészséges kontroll egyént (15 férfi és 25 nő, medián életkor: 33 év) vontunk be. Vizsgálatunk során összesen 62 roham alatt levett vérmintát vizsgáltunk. Minden betegről legalább egy, maximum 5 ödémás roham során levett vérminta állt rendelkezésünkre, amelyek közül 21 szubmukózus (19 hasi, 2 felső légúti), 29 szubkután és 12 „vegyes”(szubkután és szubmukózus) lokalizációjú ödéma során került levételre.

##### ***3.1.2. A neutrofil granulociták vizsgálatába bevont C1-INH-HAE betegek és egészséges kontroll egyének***

A vizsgálatba 26 C1-INH-HAE beteget (6 férfi és 20 nő, medián életkor 33 év, 19 beteg tartozott a C1-INH-HAE I-es típusba és 7 beteg tartozott a C1-INH-HAE II-es típusba) és 26 egészséges kontroll egyént (7 férfi és 19 nő, medián

életkor: 37 év) vontunk be. Vizsgálatunk során 26 roham alatt levett vérmintát vizsgáltunk (minden betegtől egy ödémás roham alatt vett mintát).

### ***3.1.3. Egy C1-INH-HAE beteg és egy egészséges kontroll egyén nyomonkövetéses vizsgálata***

Először követtük nyomon a tünetek regisztrálásával és rendszeres vérmintavétellel egy ödémás roham klinikai lefolyását egy 56 éves, I-es típusú C1-INH-HAE nőbetegünk esetében a rohamot megelőző tünetmentes állapottól az ödéma teljes elmúlásáig. Vizsgálatunk teljes ideje alatt a beteg kérésünkre egy tüneti naplóban jegyezte a tüneteit, a hozzájuk tartozó időpontokkal. A tünetek súlyosságát rendszeresen rögzítette egy 0-100 mm vizuális analóg skálán (VAS) külön-külön a prodromális és ödémás tünetekre. A betegtől összesen 12 vérvétel történt a vizsgálat ideje alatt.

Kontrollként egy önként vállalkozó 52 éves egészséges nőt vontunk be, akinek ismert betegsége nem volt, és a vizsgálatunk ideje alatt gyógyszeres kezelésben nem részesült.

## **3.2 Laboratóriumi módszerek**

A betegek és egészséges kontroll egyének fehérvérsejtszámát, neutrofil granulocita számát illetve hematokrit értékét EDTA-val antikoagulált teljes vérből, Advia 120 Hematology System automatával határoztuk meg.

A további vizsgálatokhoz a szérum/ EDTA-/ citrát-plazma mintákat -70°C-on tároltuk felhasználásig.

A betegek és egészséges kontroll egyének szérum mintáiban határoztuk meg a C1q, és H faktor szintjét illetve C1-INH aktivitását ELISA módszerrel, C1r szintjét radiális immundiffúzióval és C3, C4 illetve CRP szintjét kémiai analízátorral, automatával határoztuk meg.

A betegek és egészséges kontroll egyének EDTA-plazma mintáiban határoztuk meg a C1-INH, C1s, C3a, C4a, C5a, TCC, H faktor, NE, MPO, PTX3, IL-8 és TNF- $\alpha$  koncentrációját ELISA módszerrel.

A betegek és egészséges kontroll egyének citrát mintáiban az aktivált FXI, aktivált FXII szintjét határoztuk meg koagulometriával, a prothrombin időt és az aktivált parciális tromboplastin időt pedig standard laboratóriumi módszerek alapján. A fibrinogén meghatározása a Clauss módszer alapján történt. A plazminogén, a plazminogén aktivátor inhibitor 1 és D-dimer szintjét automata rendszerrel végeztük. A F1+2 és TAT-komplex szintjét ELISA módszerrel határoztuk meg.

### **3.3. Statisztikai elemzés**

A statisztikai analízis és az ábrák elkészítése Prism 5 for Windows (GraphPad Software, San Diego, Amerikai Egyesült Államok) program használatával készült. A statisztikai próbák eredményét  $p < 0,05$  értékekre esetén tekintettük szignifikánsnak.

## **4. Eredmények**

### **4.1. A koagulációs, fibrinolitikus és kontaktrendszer változásainak egyidejű, átfogó vizsgálata C1-INH-HAE-ban**

Szignifikánsan emelkedett FXIIa, FXIa, F1+2 és TAT-komplex szintet mértünk a betegek ödémás rohamok során levett mintáiban ugyanazon betegek tünetmentes mintáiban mért értékekhez képest. Először vizsgáltuk meg C1-INH-HAE betegekben hogyan változik a PI, illetve az aPTI tünetmentes állapotban és rohamok során. Nem találtunk különbséget a PI időkbén a betegek tünetmentes állapota és az egészséges kontroll csoport között, ugyanakkor a betegek ödémás rohama során a PI és aPTI is szignifikánsan csökkent a tünetmentes állapothoz képest. Továbbá rövidebb aPTI-t tapasztaltunk a C1-INH-HAE betegek tünetmentes állapotában az egészséges kontroll csoporthoz képes.

A D-dimer emelkedett szintjét tapasztaltuk C1-INH-HAE betegek mintáiban egészséges kontroll csoporthoz viszonyítva, valamint a betegek ödémás rohamok során levett mintáiban szintje tovább emelkedett a tünetmentes állapothoz képest. A plazminogén esetén nem kaptunk különbséget a vizsgált csoportok között, ugyanakkor a PAI-1 esetében alacsonyabb szintet mértünk ödémás rohamok során, mind ugyanazon betegek tünetmentes mintáihoz, mind egészséges kontroll egyének mintáihoz hasonlítva. A több lokalizációt érintő ödémás rohamok során magasabb D-dimer szintet, míg csökkent protrombin időt és plazminogén szintet mértünk az egy lokalizációt érintő ödémás rohamokhoz képest. Nem találtunk szignifikáns különbséget a szubkután és szubmukózus lokalizációjú ödémás rohamok között a plazmaenzimrendszerek egyes paraméterei tekintetében. Egy betegünk spontán lefolyású ödémás rohamának nyomonkövetése során az ödémás tünetek kialakulásával mind a F1+2 és TAT-komplex szintje jelentős mértékben (a normál tartományon felülre) megnövekedett, és emelkedett maradt, majd a tünetek javulásával párhuzamosan kezdett el csökkenni. A D-dimer értékek stabilan megegyeztek az ödémás rohamot megelőző tünetmentes és prodromális időszakban ugyanúgy,

ahogy az egészséges kontroll egyénben is a 24-órás periódusban egyaránt normál szintet találtunk. Azonban az ödémás tünetek kialakulásával egyidejűleg, a D-dimer szintjében növekedést figyeltünk meg, amelynek csúcspontja 100-szorosa volt a megfigyelési időszak kezdetén mért értékeknek. A D-dimer szintjének csökkenése az ödémás tünetek javulása alatt kezdődött meg.

#### **4.2. Neutrofil granulociták vizsgálata C1-INH-HAE-ban**

Az egészséges kontroll csoporthoz képest szignifikánsan magasabb neutrofil granulocita- és fehérvérsejtszámot mértünk a C1-INH-HAE betegek tünetmentes mintáiban. Továbbá az ödémás rohamok során magasabb fehérvérsejtszámot és neutrofil granulocita számot tapasztaltunk ugyanazon betegek tünetmentes állapotában mért értékeihez viszonyítva. Az ödémás rohamok során szignifikánsan emelkedett a plazma NE, MPO és PTX3 szintje a tünetmentes állapotban mért, valamint egészséges kontroll egyénekben mért szintekhez képest. Ugyanakkor a C1-INH-HAE betegek tünetmentes állapotában mért szintek nem különböztek az egészséges kontroll csoportban mért szintektől. A betegek ödémás rohamok során vett mintáiban pozitív korrelációt kaptunk a neutrofil granulocita szám és a NE szint, a NE és a MPO szint, valamint a neutrofil granulocita szám és MPO koncentrációja között. A neutrofil granulocita szám és fehérvérsejtszám is az ödéma kialakulásával párhuzamosan emelkedett meg jelentősebben, majd az ödémás tünetek javulása során a sejtszámokban csökkenés kezdődött és az ödéma elmúlására az ödémás tüneteket megelőző szintre csökkent vissza. A NE és MPO aktivációs markerek szintjei az egész megfigyelési időszakban fluktuáltak. A PTX3 esetében határozott csúcspontot mértünk az ödémás roham lefolyása alatt, majd az ödémás tünetek megszűnése után mért érték megegyezett a vizsgálatunk kezdetén, tünetmentes állapotban mért értékkel.

### **4.3. A C1-INH hiány közvetlen következményeinek vizsgálata egy C1-INH-HAE ödémás roham lefolyásának nyomonkövetése során**

Az egész megfigyelési idő alatt folyamatos csökkenést figyeltünk meg a C1-INH koncentrációban és funkcionális aktivitásban is. A roham kezdetének időpontjában a C1-INH koncentráció és aktivitás is felére csökkent a tünetmentes időszakban mért kiindulási értékhez képest, és nem emelkedett sem az ödémás tünetek javulása során, sem a teljes elmúlása után, tünetmentes állapotban.

A beteg nyomonkövetésének kezdetén, tünetmentes állapotban mértük a legmagasabb C4 koncentrációt, majd a prodromális tünetek megjelenésével koncentrációjában csökkenés kezdődött, ami az ödémás tünetek megjelenésével fokozódott. Az ödémás tünetek javulásával sem változott a csökkenő tendencia, és miután a C4 szint elérte a detektálási limit alsó határát, ezen a szinten maradt a megfigyelési idő hátralevő idejében. Emelkedést a C4 koncentrációban még a tünetek teljes elmúlása után sem tapasztaltunk. A C4a aktivációs termék a megfigyelés kezdetén tünetmentes állapotban mért koncentrációhoz képest már a prodromális periódusban emelkedett, az ödémás rohamot megelőző 7. órában mért maximuma az alapkonzentráció négyszerese volt, az egészséges kontrollban mért értékekhez viszonyítva hétszeres emelkedést tapasztaltunk. Az ödémás roham alatt a C4a szint magas maradt, majd a tünetek javulásával egyidejűleg csökkent a szintje. A C3a, a C5a és TCC aktivációs termékek szintje nem mutatott emelkedő tendenciát, és a megfigyelési időszak alatt mért koncentrációk végig az egészséges kontrollban mért koncentrációk alatt maradtak.

## 5. Következtetések

A dolgozat fő megállapításai a következők:

1. Megerősítettük a kontakt-, koagulációs- és fibrinolitikus rendszerek ödémás rohamok során végbemenő aktiválódását az irodalomban eddig megjelent publikációkhoz képest nagyobb esetszámú betegcsoport bevonásával, valamint ugyanazon betegektől származó tünetmentes és roham alatti vérminták összehasonlítása alapján. Megállapításunkat a rohamok során tapasztalt emelkedett FXIIa, F1+2, TAT-komplex, D-dimer szintekre valamint csökkent PI és APTI-re alapozzuk (6.1.1.). A betegek tünetmentes állapotában az ödémás rohamokhoz képest kisebb mértékű, de egészségesekben tapasztaltakhoz képest magasabb prokoaguláns és fibrinolitikus aktivitást figyeltünk meg (6.1.1.). Egy beteg 96-órás nyomonkövetése alapján arra következtethetünk, hogy az ödéma kialakulásával párhuzamosan következik be ezen rendszerek aktiválódása, mivel a prodromális tünetek alatt minden paraméter – a fibrinogént kivéve - stabilan az egészséges kontrollban mért szinten volt (*az eredmény publikálása folyamatban van*).
2. Az ödémás rohamok rendkívül nagy változatosságot mutatnak, nemcsak az egyes betegek vonatkozásában, de még az egy beteghez tartozó ödémás rohamok tekintetében is. Itt nemcsak a szemmel is látható klinikai tünetek és azok súlyosságának változatosságára gondolunk, hanem a plazmaenzimrendszerek aktiváltságára és egyes paramétereinek szintjeinek fluktuálására a különböző ödémás rohamok között. Először vizsgáltuk, hogy az egy, vagy több lokalizációt érintő ödémás rohamok befolyásolják-e a plazmaenzimrendszerek paramétereinek szintjét, és azt tapasztaltuk, hogy a több lokalizációt érintő ödémás rohamok során fokozottabb mértékben aktiválódik a koagulációs és fibrinolitikus rendszer is (6.1.1.).
3. Vizsgálatunk során nagyobb esetszám vizsgálatával, figyelembe véve a hemokoncentráció mértékét, megerősítettük, hogy a neutrofil granulocita szám emelkedett a C1-INH-HAE ödémás rohamok során ugyanazon betegek

tünetmentes állapotban mért értékéhez képest (6.1.2). Továbbá azt is kimutattuk, hogy C1-INH-HAE betegekben már, tünetmentes állapotban emelkedett a neutrofil granulocita szám, az egészséges kontroll egyénekhez képest (6.1.2). A neutrofil granulociták száma nem változik az ödémás rohamot megelőzően, ugyanakkor az ödémás roham kialakulásával egy időben, azzal párhuzamosan emelkedik meg kiugróan (*az eredmény publikálása folyamatban van*).

4. Elsőként vizsgáltuk ugyanazon C1-INH-HAE betegek tünetmentes és rohamok során vett mintáiban a rohamok során fellépő neutrofil granulocita aktiváció lehetőségét. Az ödémás rohamok során emelkedett NE, MPO és PTX3 szintek alapján a neutrofil granulociták aktiválódására következtetünk C1-INH-HAE ödémás rohamok során. Megállapításunkat erősíti, hogy a NE erős korrelációt mutatott a neutrofil granulocita számmal és MPO szintjével ödémás rohamok során, míg ezen összefüggéseket sem a betegek tünetmentes állapotában, sem egészséges kontroll egyénekből vett mintában nem tapasztaltuk (6.1.2).

5. Elsőként sikerült egy spontán lefolyású ödémás roham kialakulását, lefolyását és elmúlását nyomon követnünk egy C1-INH-HAE beteg esetében. A szisztémásan mérhető C1-INH szint csökkenése és az ödémás tünetek kialakulása között összefüggést tapasztaltunk, ugyanakkor úgy tűnik az ödémás tünetek spontán elmúlása háttérben más faktoroknak lehet szerepe, nem a C1-INH-nak (6.1.3).

6. A prodromális periódus vizsgálatára a korábbiakban nem került sor. Vizsgálatunk során elsőként tudtuk megfigyelni ezt az időszakot egy C1-INH-HAE ödémás roham nyomomonkövetése kapcsán, és megállapíthatjuk, hogy már a prodromális tünetek megjelenésével elindulhat az ödéma kialakulásához vezető folyamat. Erre a klasszikus út paramétereinek szintjében bekövetkező változások (C1-INH csökkenés, C1 szubkomponensek, C4 csökkenés és C4a emelkedés) utalnak. A C4a emelkedése a prodromális periódusban az ödémás rohamok prediktív biomarkere lehet (6.1.3).



7. Az ödémás roham nyomonkövetése során megfigyelt csökkenő C4, valamint az emelkedett C4a szintből a komplementrendszer klasszikus útvonalának aktiválódására következtetünk, ugyanakkor mivel a C3a, C5a és TCC aktivációs termékek szintjei nem mutattak emelkedést a megfigyelési időszak során, és szintjük végig az egészséges kontrollban mért szintek alatt maradt arra következtetünk, hogy az aktiválódás a C3 szintjén megáll, és további aktiváció a terminális úton nem figyelhető meg (6.1.3).

## 6. Saját publikációk jegyzéke

### 6.1. A disszertációhoz kapcsolódó publikációk

1. Csuka D\*, Veszeli N\*, Imreh É, Zotter Z, Skopál J, Prohászka Z, Varga L, Farkas H. Comprehensive study into the activation of the plasma enzyme systems during attacks of hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2015 Oct 9;10:132.

IF:3,290

\*Megosztott első-szerzőség

2. Veszeli N, Csuka D, Zotter Z, Imreh É, Józsi M, Benedek S, Varga L, Farkas H. Neutrophil activation during attacks in patients with hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2015 Dec 10;10:156.

IF:3,290

3. Veszeli N, Kóhalmi KV, Kajdácsi E, Gulyás D, Temesszentandrás G, Cervenak L, Farkas H, Varga L. Complete kinetic follow-up of symptoms and complement parameters during a hereditary angioedema attack. *Allergy.* DOI: 10.1111/all.13327 (2017)

IF:7,361\*

A disszertációhoz kapcsolódó publikációkra vonatkozó összesített impakt faktor: **12,29**.

### 6.2. A disszertációtól független publikációk

1. Veszeli N, Füst G, Csuka D, Trauninger A, Bors L, Rozsa C, Nagy Z, Jobbágy Z, Eizler K, Prohászka Z, Varga L, Illes Z. A systematic analysis of the complement pathways in patients with neuromyelitis optica indicates alteration but no activation during remission. (2014)

*Mol Immunol.* 2014 Feb;57(2):200-9.

IF:2,973

2. Farkas H, Csuka D, Veszeli N, Zotter Z, Szabó E, Varga L. Home treatment of attacks with conestat alfa in hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. (2014)  
Allergy Asthma Proc. 2014 May-Jun;35(3):255-9. IF:3,061
3. Zotter Z, Veszeli N, Csuka D, Varga L, Farkas H. Frequency of the virilising effects of attenuated androgens reported by women with hereditary angioedema. (2014)  
Orphanet J Rare Dis. 2014 Dec 5;9:205. IF:3,358
4. Farkas H, Veszeli N, Csuka D, Temesszentandrás G, Tóth F, Kőszegi L, Varga L. Management of pregnancies in a hereditary angioedema patient after treatment with attenuated androgens since childhood. (2015)  
J Obstet Gynaecol. 2015 Jan;35(1):89-90. IF:0,611
5. Farkas H, Kőhalmi KV, Veszeli N, Zotter Z, Várnai K, Varga L. Risk of thromboembolism in patients with hereditary angioedema treated with plasma-derived C1-inhibitor. (2016)  
Allergy Asthma Proc. 2016 Mar-Apr;37(2):164-70. IF:2,614
6. Kőhalmi KV, Veszeli N, Zotter Z, Csuka D, Benedek S, Imreh É, Varga L, Farkas H. The effect of long-term danazol treatment on haematological parameters in hereditary angioedema. (2016)  
Orphanet J Rare Dis. 2016 Feb 25;11:18. IF:3,478
7. Farkas H, Kőhalmi KV, Veszeli N, Tóth F, Varga L. First report of icatibant treatment in a pregnant patient with hereditary angioedema. (2016)  
J Obstet Gynaecol Res. 2016 Aug;42(8):1026-8. IF:1,099
8. Farkas H, Veszeli N, Kajdácsi E, Cervenak L, Varga L. "Nuts and Bolts" of Laboratory Evaluation of Angioedema. (2016)  
Clin Rev Allergy Immunol. 2016 Oct;51(2):140-51.  
A folyóirat impakt faktora a megjelenés évében 5,263, mely a közlemény típusa (Folyóiratcikk/Összefoglaló cikk/Tudományos) miatt nem kerül feltüntetésre

9. Veszeli Nóra, Kőhalmi Kinga Viktória. A herediter angioödéma gyermekkori sajátosságai, diagnosztikája és korszerű kezelése.  
Gyermekeorvos továbbképzés. 2016. XV. évfolyam 2. szám IF:-
10. Czaller I, Csuka D, Zotter Z, Veszeli N, Takács E, Imreh É, Varga L, Farkas H. Thyroid hormones and complement parameters in hereditary angioedema with C1-inhibitor deficiency. (2016)  
Ann Allergy Asthma Immunol. 2016 Aug;117(2):175-9. IF:3,728
11. Zotter Z, Veszeli N, Kőhalmi KV, Varga L, Imreh É, Kovács G, Nallbani M, Farkas H. Bacteriuria increases the risk of edematous attacks in hereditary angioedema with C1-inhibitor deficiency. (2016)  
Allergy. 2016 Dec;71(12):1791-1793. IF:7,361
12. Zotter Z, Nagy Z, Patócs A, Csuka D, Veszeli N, Kőhalmi KV, Farkas H. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms in hereditary angioedema with C1-inhibitor deficiency. (2017)  
Orphanet J Rare Dis. 2017 Jan 10;12(1):5. IF:3,478\*  
*\*A folyóirat adott évre vonatkozó impakt faktora még nem érhető el*
13. Engel-Yeger B, Farkas H, Kivity S, Veszeli N, Kőhalmi KV, Kessel A. Health-related quality of life among children with hereditary angioedema. (2017)  
Pediatr Allergy Immunol. 2017 Jun;28(4):370-376. IF:3,775\*  
*\*A folyóirat adott évre vonatkozó impakt faktora még nem érhető el*
14. Csuka D, Veszeli N, Varga L, Prohászka Z, Farkas H. The role of the complement system in hereditary angioedema. (2017)  
Mol Immunol. 2017 Sep;89:59-68.  
A folyóirat impakt faktora a megjelenés évében 3,236, mely a közlemény típusa (Folyóiratcikk/Összefoglaló cikk/Tudományos) miatt nem kerül feltüntetésre

15. Kessel A, Farkas H, Kivity S, Veszeli N, Kóhalmi KV, Engel-Yeger B. The relationship between anxiety and quality of life in children with hereditary angioedema. (2017)

Pediatr Allergy Immunol. 2017 Jul 10.

IF:3,775\*

*\*A folyóirat adott évre vonatkozó impakt faktora még nem érhető el*

16. Kóhalmi KV, Veszeli N, Luczay A, Varga L, Farkas H. A danazolkezelés hatása C1-inhibitor-hiány okozta hereditár angiooedemás gyermekek növekedésére. (2017)

Orv Hetil. 2017 Aug;158(32):1269-1276.

IF:0,349\*

*\*A folyóirat adott évre vonatkozó impakt faktora még nem érhető el*

17. Hofman ZLM, de Maat S, Suffritti C, Zanichelli A, van Doorn C, Sebastian SAE, Veszeli N, Csuka D, Renné T, Pasterkamp G, Cicardi M, Farkas H, Hack CE, Maas C. Cleaved kininogen as a biomarker for bradykinin release in hereditary angioedema. (2017)

J Allergy Clin Immunol. 2017 Aug 4. pii: S0091-6749(17)31268-X.

IF:13,081\*

*\*A folyóirat adott évre vonatkozó impakt faktora még nem érhető el*

A disszertáció témájától független publikációkra vonatkozó összesített impakt faktor: **52,74**.