

A lektin út aktiválódásának jelentősége herediter angioödémában

Doktori tézisek

Csuka Dorottya

Semmelweis Egyetem
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezetők:

Prof. Farkas Henriette, egyetemi tanár, MTA doktora
Prof. Prohászka Zoltán, egyetemi tanár, MTA doktora

Hivatalos bírálók:

Dr. Dérfalvi Beáta, egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Papp Krisztián, tudományos munkatárs, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke:

Prof. Oláh Imre, egyetemi tanár, MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Tóth Sára, egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Bajtay Zsuzsa, egyetemi docens, Ph.D.

Budapest
2013

1. Bevezetés

1.1. A komplement lektin út

A mannóz-kötő lektin (mannose-binding lectin, MBL), fikolin-1, fikolin-2, fikolin-3 és a kollektin-11 a lektinek családjába tartozó szolúbilis mintázat felismerő molekulák, amelyek az MBL-asszociált szerin proteázokkal (MBL-associated serine protease, MASP; melyek: MASP-1 és MASP-2) a komplementrendszer lektin útvonalát aktiválják emberben. Előzetes tanulmányok alapján a MASP-3, valamint a nem-enzimatis funkciójú MAP-1 és sMAP fehérjék a lektin út aktiválódás szabályozásában vesznek részt.

A baktériumok, vírusok és más mikroorganizmusok, illetve elhalt gazdasejtek felszínén található szénhidrát molekulákhoz (mannóz, N-acetil-glükózamin, fukóz) történő kötődés az MBL/fikolinok által aktiválja a MASP-2-t, amely aktivált állapotban elhasítja a C4 és C2 komplement komponenseket, így kialakul a C3-konvertáz (C4bC2a). A létrejött C3-konvertáz elhasítja a C3 fehérjét a C3a és a C3b fragmentumokra, melyek közül a C3b az aktivátor felszínén levő C3-konvertázhoz kötődve módosítja annak enzim specificitását, így létrejön a klasszikus C5-konvertáz (C4b2a3b). Ebben a helyzetben a C3b kötőhelyül szolgál a C5 számára, amelyet a C5-konvertáz C5a-ra és C5b-re hasít. A kis molekulású, szolúbilis C5a anafilatoxin, míg a nagyobbik hasítási termék, a C5b komplexet képez a C6, C7 és C8 komplementfehérjékkel (a C6-lépéstől további hasítások nem történnek). A végső lépés a C9 komplementfehérjék kapcsolódása, melyek polimerizálódva konformációs változást idéznek elő, így kialakul a célsejt lipid kettősrétegét keresztülfúró terminális komplementkomplex (TCC), amely a célsejt gyors ozmotikus lízisét hozza létre.

1.2. A C1-inhibitor hiányában kialakuló hereditær angioödéma

A C1-inhibitor hiányában kialakuló hereditær angioödéma (HANO-C1-INH) egy olyan sajátos állapot, amelyet a koagulációs, a fibrinolitikus, és a kontakt rendszer, továbbá a komplementaktiválódás klasszikus és lektin útjának

szabályozását biztosító C1-INH heterozigóta deficienciája okoz. A betegség autoszomális domináns módon öröklődik, és etiológiájában a *C1-INH* génjében (*SERPING1*) bekövetkező mutáció játszik szerepet, amely funkcionális C1-INH deficienciához vezet. A betegség jellegzetes tünetei a visszatérő, nem gyulladáshoz eredetű, gyakran előzmény nélkül kialakuló angioödémák, melyek lehetnek szubkután, vagy szubmukózos lokalizációjúak. A rohamok megjelenési gyakorisága és súlyossága nem jósolható meg előre, nemcsak egy egyénen belül, hanem egy család érintett tagjait tekintve sem, melynek genetikai, és/vagy környezeti okai lehetnek. A rohamok keletkezéséhez, illetve súlyosbodásához jellemzően vírusos és bakteriális infekciók (pl. *Helicobacter pylori*), egyéb fertőző ágensek, hormonális hatások, mechanikai trauma, emocionális stressz, valamint bizonyos gyógyszerek (pl. ACE-inhibitorok, ösztrogéntartalmú fogamzásgátlók) járulnak hozzá.

1.3. A komplement rendszer és a HANO-C1-INH kapcsolata

A C1-INH hiány következtében kialakuló hereditér angioödémában a komplement klasszikus aktivációs út szerepe jól feltárt, ugyanakkor az MBL által közvetített lektin út aktiválódásáról csak az utóbbi években jelentek meg közlemények. Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy hereditér angioödémában a C1-INH, C4 és MASP-2 szintek, továbbá az MBL-lektin út összaktivitása csökkentek, ám a fikolinokról és a társuló szerin proteázok, illetve szerin proteázszerű fehérjék szintjéről még keveset tudunk ebben a kórképben.

Feltételezésünk szerint a teljes lektin út alacsony aktivitását a csökkent MASP-2 szint és/vagy a HANO-C1-INH-ra jellemző csökkent C4 koncentráció okozhatja. A HANO-C1-INH-ban diagnosztikus értékű alacsony C4 szint a funkcionális C1-INH hiányában bekövetkező szabályozatlan és spontán klasszikus és/vagy lektin út aktiválódás következménye, amely során a C1 komplex, illetve a MASP-1 és a MASP-2 kontrollálatlanul aktiválódik, a C4 fokozott hasítását eredményezve. A klasszikus, illetve a lektin út autoaktiválódhat (aktiváló ágens hiányában), illetve az egyes útvonalak

specifikus aktivátorai hatására fokozott mértékben aktiválódhat a funkcionális C1-INH hiányában. Arról, hogy a HANO-C1-INH-s betegekben tapasztalt alacsony MASP-2 szintet mi okozza, csak feltételezéseink vannak. Mivel a MASP-2 deficiencia nagyon ritkán fordul elő (becsült adatok alapján a populáció 0,3%-át érinti), sokkal valószínűbb, hogy a MASP-2 alacsony koncentrációja az MBL, illetve a fikolinok által végbemenő kontrollálatlan konzumpciós mechanizmus(ok) következménye.

Dobó és mtsai. kimutatták, hogy mind a MASP-1, mind a MASP-2 képes elhasítani a nagy molekulatömegű kininogént a plazma kallikreinhez hasonlóan, ugyanakkor bradikinin felszabadulás csak a MASP-1 hatására keletkezett, a MASP-2 hatására nem. Ezen eredmények alapján feltételezhető, hogy HANO-C1-INH-ban, a C1-INH sérült szabályozó funkciója következtében a MASP-1 autoaktiválódása hozzájárul az emelkedett bradikinin szinthez, még a kontakt rendszert aktiváló ágensek hiányában is, a XII. faktortól és a kallikreintől független mechanizmus által. Mivel a MASP-1 és a MASP-2 is aktiválódhat infekciók során (amelyek gyakran váltanak ki ödémás rohamot), lehetséges, hogy a bradikinin képződés ezen XII. faktortól és a kallikreintől független útvonala fontos szerepet játszik a HANO-C1-INH-ra jellemző rohamok egy részében. Mivel a C1-INH fontos endogén inhibitora mind a MASP-1, mind a MASP-2 szerin proteáznak (melyek az MBL-lel, illetve a fikolinokkal komplexet képezve aktiválják a lektin utat), célul tűztük ki a sérült szabályozás alatt álló lektin út folyamatainak vizsgálatát egy olyan kórképben, melynek pathomechanizmusában a funkcionális C1-INH alapvető szerepet játszik.

2. Célkitűzés

Egy részletesen jellemzett, a C1-inhibitor hiányában kialakuló hereditár angioödémában szenvedő betegpopuláció vizsgálatával az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

2.1. A HANO-C1-INH-ra jellemző csökkent C1-INH aktivitás hogyan befolyásolja a klasszikus és a lektin út korai, illetve közös natív komponenseinek szintjét?

Eddig csupán két közlemény vizsgálta az MBL-lektin út szerepét HANO-C1-INH-ban, ugyanakkor a fikolin-lektin út HANO-C1-INH-ban betöltött funkciójával kapcsolatban még hiányosak ismereteink. Korábbi tanulmányok alapján azt feltételeztük, hogy az MBL-nél nagyobb mennyiségben jelen lévő fikolinokon keresztül bekövetkező kontrollálatlan komplementaktiválás az egészséges egyénektől eltérően, markánsan hozzájárulhat a C1-INH korszumpcióhoz. Feltételezésünk vizsgálata érdekében elemeztük a klasszikus és a lektin út komponenseinek szintjét tünetmentes HANO-C1-INH-s betegekben, és egészséges egyénekből.

2.2. Milyen hatással van a funkcionális C1-INH hiánya a klasszikus, a lektin, az alternatív és a terminális utakon keletkező komplexek szintjére?

Jelenlegi tudásunk szerint a C1-INH a komplementrendszer klasszikus és lektin-indukált útjain belül a komplement komplexek (C1 komplex, MBL-MASP-2, fikolin-3/MASP-2) legfontosabb inhibitora, ezért azt feltételeztük, hogy a funkcionális C1-INH csökkent koncentrációja kihat a komplement kaskád során keletkező komplexek szintjére. Ennek megfelelően vizsgálataink célja az volt, hogy elemezzük a C1rC1sC1-INH (klasszikus út), a fikolin-3/MASP-2 (fikolin-lektin út), a C3bBbP (alternatív út), és SC5b-9 (terminális út) komplexek szintjét a C1-INH hiányában kialakuló hereditár angioödémában.

2.3. Befolyásolja-e a funkcionális C1-inhibitor hiánya a korai MBL-lektin út, illetve a fikolin-lektin út aktivitását tünetmentes HANO-C1-INH-s betegekben?

Munkacsoportunk korábban leírta, hogy a MASP-2 koncentráció, és az MBL-lektin út összaktivitása is csökkent HANO-C1-INH-s betegekben, de az MBL szint nem. Célul tűztük ki az MBL-MASP-2 komplex által végbemenő C4-depozíció, valamint a fikolin-3 által mediált TCC-depozíció meghatározását HANO-C1-INH-s betegekben és egészséges kontrollokban.

2.4. Van-e összefüggés az MBL-lektin út, illetve a fikolin-lektin út komponenseinek szintje és a HANO-C1-INH súlyossága között?

Egy korábbi tanulmány eredményei alapján az MBL-lektin út aktiválódásának mértéke nem befolyásolja a HANO-C1-INH tüneteinek súlyosságát, ugyanakkor az MBL-nél nagyobb mennyiségben jelen lévő fikolin-2 és fikolin-3 szerepét HANO-C1-INH-ban még nem vizsgálták. Célunk az volt, hogy elemezzük a fikolin-lektin út komponensei és a HANO-C1-INH súlyossága közötti lehetséges összefüggéseket.

2.5. Megváltozik-e a fikolin-lektin út paramétereinek szintje a HANO-C1-INH-s rohamok során?

A fikolinokhoz kapcsolódó MASP-1 és MASP-2 aktiválódása konzumpciós mechanizmussal hozzájárulhat a csekély mennyiségű funkcióképes C1-INH felhasználódásához, ezáltal a C1-INH által szabályozott rendszerek kontrollálatlan aktiválódásához, és az ödéma képződéshez. Korábbi tanulmányok szerint a MASP-1 szerepet játszik a nagy molekulatömegű kininogén bradikininné történő hasításában, tehát ez a megfigyelés is arra utal, hogy a lektin út közreműködhet a HANO-C1-INH pathomechanizmusában. A kérdés megválaszolása érdekében ugyanazon betegek tünetmentes időszakban, illetve roham során gyűjtött mintáiban vizsgáltuk a fikolin-lektin út fehérjéinek szintjét, illetve a fikolin-lektin út aktiválódás mértékét.

3. Módszerek

3.1. Vizsgált személyek

Vizsgálatainkhoz az Országos Angioödéma Központban nyilvántartott 138 HANO-C1-INH-s beteg (60 férfi, 78 nő; medián életkor: 35,3 év) 2004 és 2010 között, tünetmentes időszakokban gyűjtött vérmintáját használtuk fel. A betegek klinikai és laboratóriumi leleteiből részletes adatbázis, valamint a vérvételt követően szérum-, plazma- és DNS-bank készült.

A fent bemutatott 138 beteg közül 35 betegről az ödémás rohamok során is lehetőségünk nyílt vérminták gyűjtésére, a C1-INH koncentrátum beadása előtt. Összesen 112 rohamos mintát vizsgáltunk, melyek közül 41-et szubkután, 18-at felső légúti és 53-at hasi rohamok során gyűjtöttünk.

A korban és nemben illesztett kontroll csoportot 104 egészséges felnőtt (45 férfi, 59 nő, medián életkor: 57,2 év) alkotta, akik egészségügyi szűrésen vettek részt.

3.2. Laboratóriumi módszerek

A -80°C fokon tárolt szérum mintákból radiális immunodiffúzióval mértük meg az antigenikus C1-INH és C4 szinteket, míg gyári, illetve házi ELISA technikán alapuló módszereket alkalmaztunk a funkcionális C1-INH, MBL, fikolin-2, fikolin-3, MASP-2, MASP-3, MAP-1 és fikolin-3/MASP-2 koncentrációk meghatározására. A C1rC1sC1-INH, C4a, C4d, C3a, C3bBbP és SC5b-9 szinteket -80°C fokon tárolt EDTA-plazmából, házi és kereskedelmi ELISA módszerekkel határoztuk meg. Az MBL-, illetve a fikolin-lektin út aktivitásának jellemzésére házi ELISA módszerekkel megmértük az MBL-MASP-2 komplex aktiválhatóságát, valamint a fikolin-3 által közvetített TCC-depozíció mértékét.

3.3. Statisztikai elemzés

A statisztikai analízis és az adatábrázolás Prism for Windows (GraphPad Software, San Diego, Amerikai Egyesült Államok) program használatával készült. A statisztikai tesztek kétoldalasan végeztük, a próbák eredményét $p < 0,05$ értékeke esetén tekintettük szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1. A csökkent C1-INH aktivitás hatása a klasszikus és a lektin út korai, illetve közös komponenseinek szintjére

A klasszikus és a lektin út korai, illetve közös paramétereit tekintetében különbségeket találtunk a HANO-C1-INH-s betegek és az egészséges kontrollok között. A HANO-C1-INH diagnosztikus kritériumainak megfelelően a betegekben csökkent volt az antigenikus és a funkcionális C1-INH szint, és a C4 koncentráció is, az egészséges egyének értékeihez képest. Míg a HANO-C1-INH-s betegekben a fikolin-2 és MASP-2 szintek csökkentek mutatkoztak a kontrollokhoz képest, az MBL és a MASP-3 szintje emelkedettnek bizonyult a betegekben. A fikolin-3, illetve a MAP-1 szintje nem különbözött a betegek és a kontroll személyek között.

Mind a HANO-C1-INH-s betegekben, mind az egészséges kontrollokban szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a fikolin-2 és a MAP-1, valamint a MASP-3 és a MAP-1 szintek között, bár ezek az összefüggések erősebbek voltak a betegekben. A fikolin-3 szintek hasonló mértékű, szignifikáns pozitív korrelációt mutattak a MAP-1, MASP-2, és MASP-3 szintekkel, mindkét vizsgálati csoportban.

Érdekes módon a fikolin-2 és a MASP-3 szintek negatív irányú korrelációt ($r=-0,4625$, $p<0,0010$) mutattak az egészséges személyekben, ugyanakkor pozitívan korreláltak egymással a HANO-C1-INH-s betegekben ($r=0,3443$, $p=0,0008$).

4.2. Új módszer kifejlesztése a fikolin-3/MASP-2 komplex meghatározására

A fikolin-lektin út szerepének behatóbb tanulmányozása érdekében *Peter Garred (Rigshospitalet, University Hospital of Copenhagen, Dánia)* munkacsoportjával együttműködve kifejlesztettünk egy új, kvantitatív szendvics ELISA-alapú módszert, amely alkalmas a keringő fikolin-3/MASP-2 komplexek (a fikolin-lektin út egyik iniciátor-komplexe) mennyiségi meghatározására, és tükrözi a fikolin-3 által közvetített lektin út aktiválhatóság mértékét, függetlenül a komplement kaskádban részt vevő bármely komponens esetlegesen csökkent

szintjétől. A módszer alapját egy kereskedelmi forgalomban kapható monoklonális anti-humán-MASP-2 ellenanyag képezi, amely a MASP-2 fehérje CCP1/2-SP fragmentumát ismeri fel. Detektáló ellenanyagként egérben termelt biotinilált anti-humán-fikolin-3 ellenanyagot (FCN334*Bio) használtunk. A fikolin-3/MASP-2 komplex szintje - melyet 97 egészséges véradó mintájában határoztunk meg – szignifikánsan korrelált a fikolin-3 által közvetített C4-depozíció mértékével ($r=0,671$, $p<0,0001$), valamint a fikolin-3 ($r=0,2532$, $p=0,0124$) és a MASP-2 ($r=0,4505$, $p<0,0001$) szintekkel.

4.3. A csökkent C1-INH aktivitás hatása a komplement aktiválódás során keletkező komplexek szintjére és az egyes útvonalak aktivitására

A HANO-C1-INH-s betegek tünetmentes időszakban gyűjtött mintáiban kb. 10-szer magasabb C1rC1sC1-INH koncentrációt tapasztaltunk, az egészséges egyének értékeihez viszonyítva ($p<0,0001$), míg a C3bBbP és az SC5b-9 szintek tekintetében nem találtunk különbséget a HANO-C1-INH-s betegek és az egészséges egyének között. A kontroll csoport mintáiban szignifikánsan magasabb koncentrációban volt jelen a fikolin-3/MASP-2 komplex, a HANO-C1-INH-s betegekhez képest ($p=0,0005$).

Az MBL-MASP-2 komplex aktiválhatósága tekintetében nem találtunk különbséget a HANO-C1-INH-s betegek és a kontrollok között ($p=0,9325$), ugyanakkor a fikolin-3 által közvetített TCC-depozíció mértéke szignifikánsan alacsonyabb volt tünetmentes HANO-C1-INH-s betegekben, mint az egészséges kontrollokban ($p<0,0001$).

4.4. A lektin út paraméterek és a HANO-C1-INH súlyossága közötti összefüggések

Megvizsgáltuk, hogy van-e összefüggés a lektin út egyes paramétereinek szintje, valamint a HANO-C1-INH súlyosságát jellemző markerek között. A legerősebb összefüggéseket a funkcionális C1-INH, valamint az antigenikus C1-INH és C4 szintek mutatták, melyek szignifikánsan korreláltak a

szubkután/hasi/felső légúti ödémás rohamok átlagos éves számával, az átlagos éves összrohamszámmal, valamint az elfogyasztott C1-INH koncentrátum átlagos éves mennyiségével. A fikolin-2 szintek szignifikáns negatív korrelációt mutattak a hasi rohamok éves számával, és az elfogyasztott C1-INH koncentrátum mennyiségével. A fikolin-3 koncentráció szignifikáns negatív korrelációt mutatott az átlagos éves összrohamszámmal, a szubkután, illetve a felső légúti rohamok gyakoriságával, valamint az átlagos éves C1-INH koncentrátum fogyasztással. A C1rC1sC1-INH komplex szintje, valamint a fikolin-3 által közvetített TCC-depozíció mértéke pozitív korrelációt mutatott a HANO-C1-INH minden súlyossági markerével.

4.5. A fikolin-lektin út paraméterek és aktivációs termékek szintjének változása a HANO-C1-INH-s rohamok során

Meglepő módon a funkcionális C1-INH aktivitása kb. 50%-kal nőtt a rohamok során, ugyanazon HANO-C1-INH-s betegek tünetmentes értékeihez képest ($p < 0,0009$), ugyanakkor az antigenikus C1-INH szintje nem változott. Ugyanazon betegek mintáit összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy a rohamok során mérsékelten emelkedett a fikolin-3/MASP-2 komplex szintje a tünetmentes állapothoz képest ($p = 0,0224$), ugyanakkor a fikolin-3 által közvetített TCC-depozíció mértéke markánsan csökkent a rohamok során, a tünetmentes állapothoz képest ($p = 0,0002$).

Bár a klasszikus út aktiválódását jellemző paraméterek (C1rC1sC1-INH, C4a, C4d) szintje nem változott a tünetmentes és a rohamos állapotok között, az egészséges egyének értékeihez képest szignifikáns különbségeket találtunk ezen paraméterek szintjében. Ezzel párhuzamosan az ödémás rohamok során gyűjtött mintákban csökkent mértékű komplementaktiválódást figyeltünk meg a C3 hasítási lépést követően, a tünetmentes állapothoz képest csökkent C3a és C3bBbP szintek alapján.

5. Következtetések

1) Vizsgálatunk megerősítette azt a feltételezést, miszerint a funkcionális C1-INH hiányában kialakuló hereditár angioödémában a klasszikus és a lektin út folyamatosan (auto)aktiválódik, még a tünetmentes időszakokban is. A kontrollálatlan, folyamatos komplementaktiválás eredményezheti az egészséges egyénekhez képest csökkent fikolin-2, MASP-2 és C4 szinteket, ugyanakkor a feltételezhetően szabályozó funkciójú MASP-3 koncentrációja emelkedettnek bizonyult tünetmentes HANO-C1-INH-s betegekben. A lektin út paramétereit között tapasztalt korrelációk alapján a csökkent MASP-2 szintet a fikolinokon keresztül bekövetkező komplementaktiválás okozhatja.

2) Tünetmentes HANO-C1-INH-s betegekben a klasszikus és a lektin út komplexei közül a C1rC1sC1-INH komplex szintje emelkedett, ugyanakkor a fikolin-3/MASP-2 komplex szintje (amely meghatározására új módszert vezettünk be) csökkentnek bizonyult, az egészséges kontrollokhoz képest. A C3bBbP és SC5b-9 komplexek szintje nem emelkedett tünetmentes HANO-C1-INH-s betegekben az egészséges egyénekhez képest, tehát a komplementkaskád C3 lépését követően nem tapasztaltunk fokozott mértékű komplementaktiválódást a C1-INH hiányában.

3) Bár tünetmentes HANO-C1-INH-s betegekben az MBL-MASP-2 aktiválhatóság mértéke – amelynek meghatározására egy új funkcionális tesztet vezettünk be laboratóriumunkban – nem különbözött tünetmentes HANO-C1-INH-s betegekben és az egészséges egyéneknél, a fikolin-3 által közvetített TCC-depozíció mértéke szignifikánsan csökkentnek mutatkozott tünetmentes időszakban a HANO-C1-INH-s betegekben, az egészséges egyénekhez képest, amely feltehetőleg a csökkent MASP-2 és C4 szintek következménye.

4) Vizsgálatunkban először igazoltuk, hogy a fikolin-lektin út paramétereinek szintje összefüggést mutat a HANO-C1-INH súlyosságával, ugyanakkor az MBL-lektin út komponensei nem korreláltak a súlyossági markerekkel. A HANO-C1-INH tüneteinek súlyossága fordított összefüggést mutatott a fikolin-2 és a fikolin-3 szintekkel, tehát eredményeink alapján a gyakoribb és súlyosabb ödémás rohamok alacsony fikolin-2 és fikolin-3 szintekkel járnak együtt. Azon kérdés megválaszolása, hogy az alacsony fikolin-2 és fikolin-3 szint ok, vagy következmény-e a kórkép pathomechanizmusában, további vizsgálatokat igényel.

5) Elsőként vizsgáltuk ugyanazon HANO-C1-INH-s betegek párosított tünetmentes és rohamos mintáiban a rohamok során fellépő komplementaktiválódás lefolyását. Kimutattuk, hogy az ödémás rohamok együtt járhatnak a fikolin-lektin út aktiválódásával, amit a fikolin-3/MASP-2 komplex szint emelkedése, és a csökkent mértékű fikolin-3 által közvetített TCC-depozíció jelzett. Meglepő eredmény, hogy a rohamok során kb. 50%-kal emelkedett a funkcionális C1-INH szintje a tünetmentes állapothoz képest, és szignifikánsan korrelált a fikolin-3/MASP-2 komplex szintjével. Azon kérdés megválaszolására, hogy a fikolin-lektin út aktiválódása az ödémás rohamok oka, vagy következménye-e, további vizsgálatok szükségesek.

6. Saját publikációk jegyzéke

6.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

- 1) Csuka D, Molvarec A, Derzsy Z, Varga L, Füst G, Rigó J, Prohászka Z. (2010) Functional analysis of the mannose-binding lectin complement pathway in normal pregnancy and preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 87:(1-2) 90-96 IF: 2,204 (2010)
- 2) Csuka D, Füst G, Farkas H, Varga L. (2011) Parameters of the classical complement pathway predict disease severity in hereditary angioedema. *Clin Immunol*, 139:(1) 85-93. IF: 4,046 (2011)
- 3) Csuka D, Munthe-Fog L, Skjoedt MO, Hein E, Bay JT, Varga L, Füst G, Garred P. (2013) A novel assay to quantitate MASP-2/ficolin-3 complexes in serum. *J Immunol Methods*, 387:(1-2) 237-244. IF: 2,203* (2011)
- 4) Csuka D, Munthe-Fog L, Skjoedt MO, Kocsis A, Zotter Z, Gál P, Varga L, Farkas H, Füst G, Garred P. (2013) The role of ficolins and MASPs in hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Mol Immunol*, 54:(3-4) 271-277. IF: 2,897* (2011)

6.2. A disszertációtól független közlemények

- 1) Maus M, Medgyesi D, Kövesdi D, Csuka D, Koncz G, Sármay G. (2009) Grb2 associated binder 2 couples B-cell receptor to cell survival. *Cell Signal*, 21:(2) 220-227. IF: 4,094 (2009)
- 2) Csuka D, Kókai M, Varga L. (2009) Hemolitikus összkomplement helyett ELISA? *Klin Kísérl Lab Med*, 34:(1) 4-10
- 3) Kelemen Z, Moldovan D, Mihály E, Visy B, Széplaki G, Csuka D, Füst G, Farkas H, Varga L. (2010) Baseline level of functional C1 inhibitor correlates with disease severity scores in hereditary angioedema. *Clin Immunol*, 134:(3) 354-358. IF: 3,932 (2010)
- 4) Csuka D, Zotter Z, Varga L, Füst G, Farkas H. (2010) Profilaktikus kezelés hereditár angioödémás gyermekekben – Mikor, mit és hogyan? *Gyermekorvos Továbbképzés*, 9:(4) 213-217.

- 5) Farkas H, Czaller I, Csuka D, Vas A, Walentin S, Varga L, Széplaki G, Jakab L, Füst G, Prohászka Z, Harmat G, Visy B, Karádi I. (2010) The effect of long-term danazol prophylaxis on liver function in hereditary angioedema – a longitudinal study. *Eur J Clin Pharmacol*, 66:(4) 419-426. IF: 3,032 (2010)
- 6) Czaller I, Visy B, Csuka D, Füst G, Tóth F, Farkas H. (2010) The natural history of hereditary angioedema and the impact of treatment with human C1-inhibitor concentrate during pregnancy - a long-term survey. *Eur J Obstet Gyn R B*, 152:(1) 44-49. IF: 1,764 (2010)
- 7) Kelemen Z, Visy B, Csuka D, Czaller I, Füst G, Farkas H. (2010) Abdominal symptoms of hereditary angioedema and early weaning. *Eur J Clin Nutr*, 64:(9) 1025-1027. IF: 2,563 (2010)
- 8) Farkas H, Kelemen Z, Csuka D, Varga L, Rajczy K, Bors A, Miklós K. (2010) Recurrent neurological abnormalities in children suffering from hereditary C1 inhibitor deficiency – A rare manifestation of HAE or something else? *Angioedema*, 1:(3) 17-21.
- 9) Zotter Z, Csuka D, Varga L, Füst G, Farkas H. (2010) WBC elevation and the resulting neutrophilia characterize hereditary angioedema attacks. *Angioedema*, 1:(3) 10-16.
- 10) Füst G, Farkas H, Csuka D, Varga L, Bork K. (2011) Long-term efficacy of danazol treatment in hereditary angioedema. *Eur J Clin Invest*, 41:(3) 256-262 IF: 3,018 (2011)
- 11) Czaller I, Molnár K, Csuka D, Varga L, Farkas H. (2011) Successful outcome using C1-inhibitor concentrate in acute pancreatitis caused by hereditary angioedema. *Gastroenterol Nurs*, 34:(1) 60-63. IF: 0,705 (2011)
- 12) Varga L, Füst G, Csuka D, Farkas H. (2011) Treatment with C1-inhibitor concentrate does not induce IgM type anti-C1Inhibitor antibodies in patients with hereditary angioedema. *Mol Immunol*, 48:(4) 572-576. IF: 2,897 (2011)
- 13) Csuka D, Kelemen Z, Czaller I, Molnár K, Füst G, Varga L, Rajczy K, Szabó Z, Miklós K, Bors A, Farkas H. (2011) Association of celiac disease and hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. Screening patients with hereditary angioedema for celiac disease: is it worth the effort? *Eur J Gastroen Hepat*, 23:(3) 238-244. IF: 1,757 (2011)

- 14) Farkas H, Csuka D, Gács J, Czaller I, Zotter Z, Füst G, Varga L, Gergely P. (2011) Lack of increased prevalence of immunoregulatory disorders in hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Clin Immunol*, 141:(1) 58-66. IF: 4,046 (2011)
- 15) Czúcz J, Schaffer G, Csuka D, Walentin S, Kunde J, Prohászka Z, Farkas H, Cervenak L. (2012) Endothelial Cell Function in Patients with Hereditary Angioedema: Elevated Soluble E-selectin Level During Inter-attack Periods. *J Clin Immunol*, 32:(1) 61-69. IF: 3,077* (2011)
- 16) Csuka D, Varga L, Füst G, Prohászka Z, Farkas H. (2012) A komplement paraméterek előre jelzik a C1-inhibitor hiányában kialakuló hereditaer angiooedema súlyosságát. *Orvosképzés*, 1: 21-28.
- 17) Farkas H, Csuka D, Zotter Z, Varga L, Böröcz Z, Temesszentandrás G, Jakab L, Karádi I. (2012) Home treatment of hereditary angioedema with icatibant administered by healthcare professionals. *J Allergy Clin Immunol*, 129:(3) 851-852.e2. [*Letter to Editor, IF:9,273* (2011)*]
- 18) Csuka D, Varga L, Farkas H, Füst G. (2012) Strong correlation of high EBNA-1-IgG levels with edematous attacks involving upper airway mucosa in hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Mol Immunol*, 49:(4) 649-654. IF: 2,897* (2011)
- 19) Csuka D, Banati M, Rozsa C, Füst g, Illes Z. (2012) High anti-EBNA-1 IgG levels are associated with early-onset myasthenia gravis. *Eur J Neurol*, 19:(6) 842-846. IF:3,692* (2011)
- 20) Réti M, Farkas P, Csuka D, Rázsó K, Schlammadinger Á, Udvardy ML, Madách K, Domján G, Bereczki C, Reusz GS, Szabó AJ, Prohászka Z. (2012) Complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Hemost*, 10:(5) 791-798. IF: 5,731* (2011)
- 21) Farkas H, Csuka D, Tóth F, Kőszegi L, Varga L. (2012) Successful pregnancy outcome after treatment with C1-inhibitor concentrate in a patient with hereditary angioedema and a history of four miscarriages. *Eur J Obstet Gyn R B*, 165:(2) 366-367 IF: 1,974* (2011)
- 22) Farkas H, Zotter Z, Csuka D, Szabó E, Zotter Z, Nébenführer Z, Temesszentandrás G, Jakab L, Varga L, Harmat G, Karádi I. (2012) Short-term prophylaxis in hereditary angioedema due to deficiency of the C1-inhibitor - A long-term survey. *Allergy*, 67:(12) 1586-1593. IF: 6,271* (2011)

- 23) Füst Á, Csuka D, Süveges I, Imre L, Bausz M, Nagymihály A, Csorvási Á, Füst G, Németh J. (2012) Complement activation in the aqueous humor of pseudophakic bullous keratopathy patients. *Ophthalm Res*, 49:(3) 161-166. IF: 1,561* (2011)
- 24) Farkas H, Csuka D, Zotter Z, Varga L, Füst G. (2013) Prophylactic therapy in children with hereditary angioedema. *J Allergy Clin Immunol*, 131:(2) 579-582.e2. [*Letter to Editor, IF: 11,003* (2011)*]
- 25) Farkas H, Csuka D. (2013) An abdominal attack of hereditary angioedema – right in front of your eyes. *The Lancet*, 2012 Nov 15
[*Letter to Editor, IF: 38,278* (2011)*]
- 26) Farkas H, Csuka D, Zotter Z, Szabó E, Czaller I, Varga L, Fejes J, Füst G, Harmat G. (2013) Treatment of attacks with plasma-derived C1-inhibitor concentrate in pediatric hereditary angioedema patients. *J Allergy Clin Immunol*, 131:(3) 909-911.
[*Letter to Editor, IF: 11,003* (2011)*]
- 27) Horváth Z, Csuka D, Vargova K, Kovács A, Molnár AÁ, Lee S, Varga L, Kiss RG, Préda I, Füst G. (2013) Elevated C1rC1sC1inh levels independently predict atherosclerotic coronary heart disease. *Mol Immunol*, 54:(1) 8-13. IF: 2,897* (2011)
- 28) Csuka D, Simon D, Hóbor R, Uray K, Prohászka Z, Bánlaki Z, Jani PK, Szilágyi Á, Hudecz F, Rajczy K, Beke G, Boros Major A, Tordai A, Illés Z, Berki T, Czirják L, Füst G. (2013) Serum concentration of IgG type antibodies against the whole EBNA-1 and its aa35-58 or aa398-404 fragments in the sera of patients with systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis. *Clin Exp Immunol*, 171:(3) 255-262. IF: 3,360* (2011)
- 29) Csuka D, Czirják L, Hóbor R, Illes Z, Bánáti M, Rajczy K, Tordai A, Füst G. (2013) Effective humoral immunity against diphtheria and tetanus in patients with systemic lupus erythematosus or myasthenia gravis. *Mol Immunol*, 54:(3-4) 453-456. IF: 2,897* (2011)
- 30) Bors A, Csuka D, Varga L, Farkas H, Tordai A, Füst G, Szilágyi Á. (2013) Less severe clinical manifestations in patients with hereditary angioedema with missense C1INH gene mutations. *J Allergy Clin Immunol*, [*közlésre elfogadva, Letter to Editor, IF: 11,003*(2011)*]

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

7. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretném kifejezni köszönetem és hálám Témavezetőimnek, Prof. Farkas Henriette-nek és Prof. Prohászka Zoltánnak, munkám odaadó irányításáért, szakmai és emberi támogatásukért, valamint a rengeteg lehetőségért, hogy részt vehettem magyar és nemzetközi konferenciákon és publikációkban.

Külön köszönettel tartozom Témavezetőimnek azért, hogy biztosították a kutatáshoz szükséges anyagi és szakmai háttérrel, és hasznos kritikáikkal segítették fejlődésemet.

Témavezetőim és egyben példaképeim megmutatták, hogy mekkora áldás, ha az ember szereti a munkáját, és megismertették velem a kutatói hivatás szépségeit.

Végtelen hálával tartozom Dr. Varga Liliannak, korábbi tudományos diákköri témavezetőmnek, hogy bevezetett a komplement kutatások rejtelmeibe, és bármikor fordulhattam Hozzá kérdéseimmel, mindvégig mellettem állt munkám során.

Fájdalommal átszőtt hálával gondolok Füst György Professzor Úrra, aki megelőlegezett bizalmával, aki által számtalan érdekes kutatásban és gyümölcsöző kollaborációban részt vehettem, aki újabb és újabb ötleteivel lelkesítően hatott rám, de aki sajnos már nincs közöttünk e sorok írásakor. Sosem felejttem el azokat az éveket, amikor szerencsém volt Füst György Professzor Úrral együtt dolgozni, és mindig emlékezni fogok optimista, kitartó és példamutató szellemiségére.

Hálával tartozom Karádi István Professzor Úrnak, hogy PhD munkámat a Semmelweis Egyetem III. számú Belgyógyászati Klinikáján végezhettem.

Külön köszönettel tartozom Dr. Cervenák Lászlónak és Dr. Szilágyi Ágnesnek hasznos tanácsaikért, akikhez mindig fordulhattam kérdéseimmel.

Végtelen köszönettel tartozom Prof. Peter Garred-nek és munkatársainak, a koppenhágai laborban eltöltött hasznos hónapokért, valamint Marianne és Bernt Østergaard-nak értékes tanácsaikért, bátorításukért.

Hálásan köszönöm kollaborációs Partnereinknek, hogy bekapcsolódhattam rengeteg érdekes munkába: Prof. Illés Zsolt, Prof. Gergely Péter, Prof. Préda István, Prof. Hudecz Ferenc, Prof. Berki Tímea, Prof. Czirják László, Dr. Kádár Kata, Dr. Molvarec Attila, Dr. Gál Péter, Dr. Uray Katalin, Dr. Rajczy Katalin, Dr. Miklós Kata, Dr. Füst Ágnes, Dr. Horváth Zsófia, Prof. Konrad Bork, Prof. Rudolf Valenta, Dr. Teresa Caballero.

Szeretnék köszönetet mondani a vizsgálatban résztvevő betegeknek, hogy önzetlenül vállalták a kellemetlenségeket, és beleegyezésüket adták a vizsgálatokhoz.

Hálásan köszönöm Dóczy Andrásnének, Szendrei Zsuzsannának és Szigeti Antalnénak a laborban nyújtott kimeríthetetlen segítséget; Bali Juditnak, hogy önzetlenül segített a klinikai adatok feldolgozásában; valamint Holeczky Rudolfnénak a kedves szavakat, és folyamatos segítségét a hivatalos ügyek intézésében.

Végtelenül köszönöm kollégáimnak, hogy együtt dolgozhattam Velük rengeteg szerteágazó témában, és hálás vagyok minden jellegű támogatásukért, a baráti beszélgetésekért, és a jó hangulat megteremtéséért az évek során: Dr. Zotter Zsuzsanna, Kóhalmi Kinga Viktória, Takács Bea, Veszeli Nóra, Kajdácsi Erika, Dobi Mariann, Kiss Nóra, Dr. Jenei Zsigmond, Dr. Czaller Ibolya, Dr. Szabó Erika, Dr. Kelemen Zsuzsanna, Dr. Makó Vera, Dr. Bánlaci Zsófia, Aladzity István, Dr. Doleschall Márton, Dr. Széplaki Gábor, Jani Péter Károly, Dr. Harmat György.

Végül, de nem utolsó sorban hálás köszönettel tartozom a kitartó és pótolhatatlan támogatásért barátaimnak és Családomnak: Szüleimnek, Scher Gabriellának és Csuka Józsefnek; Testvéremnek, Csuka Zsófiának; Nagymamámnak, Scher Józsefnének; Nagypapámnak, Scher Józsefnek; Keresztszüleimnek, Scher Ágotának, Csuka Györgynek és File Editnek.