

Az artériás thrombusszerkezet molekuláris és klinikai determinánsai

Doktori tézisek

Dr. Kovács András

Semmelweis Egyetem
Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kolev Kraszimir
egyetemi tanár, az MTA doktora

Hivatalos bírálók: Dr. Széplaki Gábor
egyetemi adjunktus, PhD
Dr. Tóth-Zsámboki Emese
adjunktus, PhD

A szigorlati
bizottság elnöke: Dr. Sándor Péter
ny. egyetemi tanár, DSc

A szigorlati
bizottság tagjai: Dr. Gadó Klára
főiskolai tanár, PhD
Dr. Kiss Róbert Gábor
osztályvezető főorvos, PhD

Budapest, 2015

BEVEZETÉS

A „fejlett országok” halálteki statisztikáinak élén álló cardiovascularis betegségek szinte mindig thrombus képződésével járnak. Ugyan régóta tudjuk, hogy a thrombusok kialakulását alapvetően befolyásolja a hemodinamikai milieu és a vér általános összetétele, az élettani alapjelenségek vérrögképződésre kifejtett hatását a mai napig nem ismerjük pontosan. Másfelől jól ismert tény, hogy a thrombusok szerkezete nagyban meghatározza azok viselkedését: kialakulásuk dinamikáját csakúgy, mint terápiás válaszkészségüket – ilyenformán tehát a teljes klinikai képet. Jelen tanulmányban az artériás thrombusok szerkezetét befolyásoló hatásokat vizsgáltam, elsősorban a vérrögök enzimikus feloldásának aspektusából, mely terápiás modalitás a korlátozott hatékonyság és a korántsem elhanyagolható mellékhatások miatt még bőven finomításra szorul. Az acut myocardialis infarctus kezelésében az utóbbi időben a katéteres beavatkozások térnyerésével kiszorultak a kémiai lysisen alapuló gyógyszeres eljárások, ugyanakkor a thrombolysis nem csak alternatívája, de kiegészítője is lehet az eszközös beavatkozásnak, ha figyelembe vesszük, hogy az infarctust okozó vérrög thromboaspirációval el nem távolítható maradványai distalis embolizáció forrásai lehetnek, valamint hogy az esetlegesen beültetésre kerülő coronaria-stent rethrombosis táptalajául szolgálhat. Még nagyobb szükség lenne a gyorsan és biztonságosan

alkalmazható gyógyszeres terápiára a stroke betegek ellátásában, mivel esetükben a katéter-intervenció csak bizonyos kitüntetett esetekben kivitelezhető.

A thrombusok alapvetően két fő szerkezeti komponensből állnak: sejtés elemekből (thrombocyták, vérsejtek) és fibrinhálóból. Jelen dolgozatban egyrészt a fibrinháló szerkezetét befolyásoló tényezőkkel foglalkozom, másrészt az artériás thrombosisban szenvedő betegek klinikai paraméterei és a betegekből eltávolított thrombusok ultrastrukturális architektúrája közötti összefüggésekkel.

A thrombin által aktivált fibrinolysis inhibitor (TAFI) bár a klasszikus értelmezés szerint prothromboticus irányba viszi az alvadási folyamatokat, fokozott aktivitását egyformán összefüggésbe hozták magas és alacsony thrombosis rizikóval is, ezenkívül *in vitro* is ellentmondásos viselkedést mutat. A fenti thrombusszerkezeti megfigyelések kiegészítéseként az értekezés végén a TAFI fibrinszerkezetre és fibrinolysisre gyakorolt hatásait vizsgáló kísérleteket ismertetem.

CÉLKITŰZÉSEK

A dolgozatban az alábbi kérdésekre keresem a választ:

- Milyen szerkezeti különbségek figyelhetők meg coronaria és perifériás artériás thrombusok között?
- Milyen interakció áll fenn a thrombus komponensei között a végső thrombus-architektúra kialakításában?
- A thrombus kialakulásától az eltávolításáig eltelt idő miként hat a szerkezetére?
- Általában véve milyen klinikai determinánsai vannak az artériás thrombusszerkezetnek?
- Alkalmaz-e az immunfluoreszcens megjelenítés a thrombus összetételének kvantitatív elemzésére, helyettesítheti-e a bonyolultabb elektronmikroszkópos feldolgozást?
- A TAFI / karboxipeptidáz B (CPB) működése hogy érinti a fibrinháló felépítését?
- A TAFI / CPB hatásaiban szerepet játszik-e az arginin?
- A TAFI / CPB enzimhez köthető szerkezeti változások milyen konzekvenciákat hordoznak a fibrinolysis szempontjából?

MÓDSZEREK

Thrombus minták gyűjtése

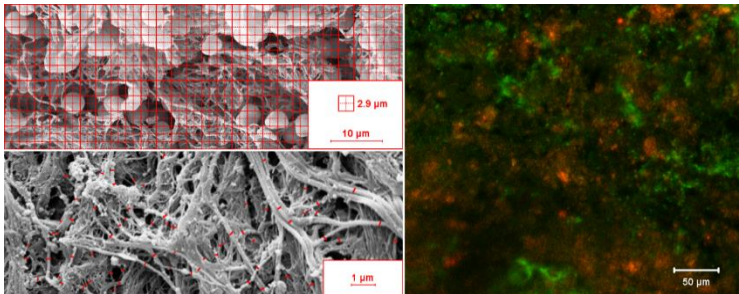
Az artériás vérrögök vizsgálatához 18 hónapon keresztül 101 acut myocardialis infarctuson átesett, percutan coronaria intervencióval és thromboaspirációval kezelt, valamint 50 perifériás artériás thrombosis miatt thrombendarterectomián átesett betegből származó thrombust gyűjtöttünk. A betegek a revascularisatio előtt aspirin, clopidogrel, Na-heparin és – kontraindikáció hiányában – abciximab gyógyszeres kezelésben részesültek. A perifériás érbetegek az operáció során nem frakcionált heparint kaptak, ezenkívül bizonyos hányadban aspirin és/vagy clopidogrel premedikációban részesültek.

Klinikai adatok

A betegekről az alábbi klinikai paramétereket regisztráltuk: kor, nem, vérkép, haemoglobin, haematocrit, C-reaktív protein szint, EKG eltérések (STEMI vagy NSTEMI, myocardialis lézió lokalizációja az EKG alapján), társbetegségek (atherosclerosis, diabetes, hypertonia, dyslipidaemia), dohányzás, thrombus lokalizációja az érpályában és az adott ér átmérője, ischaemiás idő (a tünetek felléptétől az eltávolításig), aggregáció-gátló premedikáció (aspirin, clopidogrel).

Pásztázó elektronmikroszkópia a thrombusszerkezet vizsgálatában

Mind kémcsőben kialakított alvadékok, mind *in vivo* keletkezett thrombusok vizsgálhatók pásztázó elektronmikroszkóppal. Ehhez a nátrium-kakodilátban tárolt mintákat glutaraldehides fixálásnak, majd felszálló etanolsorban, etanol/aceton elegyben és tiszta acetonban történő dehidrálásnak, végül CO₂-os kritikus pont szárításnak vetettük alá. A karbon lemezekre felvitt mintákat a felvételek készítése előtt a nyerhető felbontás növelésének céljából arany-vákuumgőzzel kezeltük. Pásztázó elektronmikroszkóppal készítettünk képeket, egy thrombus több régiójáról, összesen legalább 15 felvételt. A készített felvételeket morфомetrikusan analizáltuk, hogy meghatározzuk a fibrinszálak átmérőjének eloszlását, illetve a thrombus szerkezeti összetételét. Előbbihez saját készítésű szoftvert használtunk és képenként legalább 300 fibrinszál manuális kiválasztásával határoztuk meg a rostátmérők eloszlását (*1. ábra*, bal alsó kép). A thrombusok százalékos összetételének meghatározásához a képeket 432 cellából álló rácszat szuperpozíciójával osztottuk fel egyenlő területekre és az egyenként 8.4 μm² területű cellákat aszerint osztályoztuk, hogy mely komponens, azaz fibrin, vérlemezke, vörösvértest, fehérvérsejt vagy ezek keveréke esett bele (*1. ábra*, bal felső kép). Így végül a teljes cellaszámhoz viszonyítva megkaptuk az összetevők százalékos arányát.



1. ábra: A thrombusok összetételének mikroszkópos analízise

Immunfluoreszcencia a vérlemezkék vizualizálására

Az előben kialakult thrombusok immunfluoreszcens vizsgálata előtt, a módszer beállítása és az antitest viselkedésének karakterizálása céljából elsőként *in vitro* kitapadt thromboyták immunfluoreszcens festését végeztük el. A vérlemezke-kitapadást Na-citráttal antikoagulált teljes vér thrombogén felszínén történő áramoltatásával modelleztük. Thrombogén felszínként egyrészt humán arteria iliacából készült metszetetek, másrészt tárgylemezre polimerizált kollagén reagens szolgáltak. Az áramlási kamrába bejutó vér a thrombogén felszín felett áramlott át. A vér áramoltatását pneumatikus pumpa segítségével végeztük, amelyet a von Willebrand faktor-dependens thrombocyta-kitapadáshoz szükséges 3350 s^{-1} nyírési sebességre állítottunk be. A perfúziót követően a csatorna alapját képező, thrombogén felszínét és kitapadt vérlemezkéket tartalmazó tárgylemezt egérben termeltetett monoklonális anti-

GPIIb/IIIa elsődleges és zöld fluoreszcens kecske-anti-egér IgG másodlagos antitestekkel festettük, majd konfokális lézer mikroszkóppal vizsgáltuk, beállítva a megfelelő küszöbintenzitást a háttér-fluoreszcencia kiszűrésére, ilyenformán a jel/zaj arány optimalizálására. A felvételek készítése során ideálisnak mutató hullámhossz értékek és küszöbintenzitások nyújtották az alapot az előből származó thrombusok fluoreszcens vizualizációjának (ld. alább) beállításaihoz.

Immunfluoreszcencia a thrombusösszetétel analizésére

Az immunfluoreszcens feldolgozáshoz a thrombusokat eltávolítás után -80°C -ra hűtve tároltuk, majd kriosztáttal készítettünk metszeteket három különböző régióból. A metszeteket ezután indirekt immunfluoreszcenciával dolgoztuk fel: egérben termeltetett monoklonális anti-GPIIb/IIIa és monoklonális anti-fibrin antitesteket, majd zöld, illetve piros fluoreszcenciát adó anti-egér IgG másodlagos antitesteket használtunk. A metszetekről konfokális lézer mikroszkóppal készítettünk felvételeket, thrombusonként 15-öt (*1. ábra*, jobb oldalon). A képek kiértékelését és az eredmények kvantifikálását szoftveresen végeztük, a megfelelő terület és küszöbintenzitás beállításával meghatározva a terület vérlemezkék és fibrin általi lefedettségének pixelekben kifejezett értékét. A statisztikai tesztekhez a továbbiakban a fibrin és vérlemezke lefedettségek egymáshoz viszonyított arányát (FP) használtuk.

A fibrinoldás követése: turbidimetria

A fibrin kialakulása során képződő polimerek mérete összevethető a fény hullámhosszával, ezért a fibrin alvadékon áteresztett fény veszít intenzitásából. A 340 nm-en mért intenzitáscsökkenés (turbiditás) információt hordoz a fibrin szerkezetéről is, arányos a szálak vastagságával. Ezen az elven microplateben nagyszámú párhuzamos mérés végezhető, mérhető tiszta fibrin és plazma alvadék is és a módszer segítségével modellezhető az alvadék belsejéből és felszínéről indított fibrinolysis is. A 96 minta mérésére alkalmas microplateben fibrinogént, és arginint, illetve CPB-t tartalmazó pufferhez thrombint adtunk. Felszínről indított lysisnél a fibrinogénhez plazminogént is kevertünk és 30 perces alvasztási periódus után rétegeztünk szöveti típusú plazminogén aktivátort (tPA) az alvadék felszínére. Ha a lysist az alvadék belsejéből indítottuk, a plazminogént is tartalmazó fibrinogénhez a tPA-t a thrombinnal együtt adtuk. Aktív plazmával indított lysis esetén a plazminogén-mentes fibrin tetejére tPA helyett plazmint rétegeztünk, vagy már az alvasztás előtt homogéne eloszlattuk azt az elegyben. A turbiditás folyamatos regisztrálását spektrofotométerben végeztük, a fibrinolyticus aktivitás kvantitatív jellemzésére a maximális érték 50%-ig, ill. 10%-ig csökkenéséig eltelt időt használtuk. A fenti módszerekkel nemcsak tisztított fibrinogénből, hanem vérplazmából is végeztünk méréseket.

A fibrinoldás követése: konfokális lézer mikroszkópia

A fibrin alvadék elkészítéséhez tisztított, 2%-ban vörös fluorophorral fibrinogént alkalmaztunk, amelyhez alvasztás előtt plazminogént, és CPB-t vagy arginint is kevertünk. Az alvadékot 0.4 mm magas, 30 μ l térfogatú csatornát tartalmazó, előre gyártott lemezben hoztuk létre thrombin hozzáadásával, 30 perces inkubációval. Ezt követően sárga fluoreszcens proteinnel jelölt tPA-t (tPA-YFP) rétegeztünk az alvadék felszínére és a két fluorophor excitációs hullámhosszának megfelelő gerjesztést követően az emissziós fluoreszcenciát konfokális lézer mikroszkóppal követtük, rendszeres időközönként felvételt készítve a folyadék-fibrin határfelszínről.

A plazminogén aktiváció vizsgálata

Ebben a rendszerben microplate mérőhelyekben a plazminogént, és CPB-t vagy arginint is tartalmazó pufferben oldott fibrinogénból thrombin hozzáadásával létrehozott, 30 percig 37°C-on inkubált fibrin felszínére tPA-t és szintetikus Spectrozyme-PL plazmin szubsztrátot rétegeztünk, mely utóbbi kompetícióba lép fibrinnel a plazminért. A magas koncentráció miatt a plazmin csak a szintetikus szubsztrátot bontja, p-nitroanilint szabadítva fel, melynek abszorbanciája 405 nm-en spektrofotométerrel mérhető.

Statisztikai módszerek

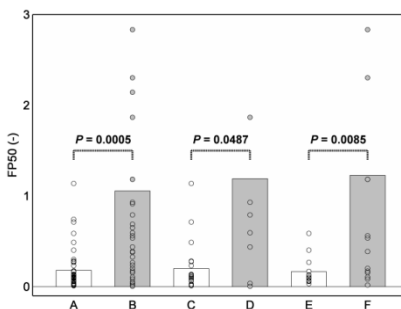
A klinikai adatok és a szerkezeti sajátosságok közötti relációk vizsgálatára hipotézis teszteket és egyszeres, illetve többszörös regressziós analízist alkalmaztunk. Ötféle Bootstrap tesztet végeztünk a kísérletek során nyert független, egy dimenziós, folytonos eloszlású mintapopulációk közötti különbségek detektálására: kétoldalú és egyoldalú tesztet a számtani átlagok és a mediánok, illetve Kuiper-tesztet az eloszlások összehasonlítására. A teszteket eredeti algoritmusok módosított változataival végeztük. A regressziós modelleket és a kiugró értékeket (outlier) klasszikus regressziós feltevések alapján kalkuláltuk. A CPB, ill. arginin jelenlétében létrehozott fibrinháló esetében a szálátmérő-eloszlások közötti különbségek megállapításához az empirikus eloszlásokra legjobban illeszkedő teoretikus eloszlásokat Monte Carlo szimulációval nyertük, az így kapott elméleti eloszlások közötti különbségeket Kuiper-teszt segítségével vizsgáltuk.

EREDMÉNYEK

Coronaria és perifériás thrombusok összetétele

Mindkét mikroszkópos technika szignifikáns különbségeket mutatott coronaria és perifériás thrombusok között. Több mint ötszörös különbség mutatkozott a fluoreszcens fibrin/vérlemezke lefedettség arányban (FP) a perifériás thrombusok javára ($P < 0.05$) és a két fő csoporton belül anatómiai lokalizáció szerint vizsgálva is alacsonyabb volt coronaria alcsoportokban, mint perifériás alcsoportokban: pl. alacsonyabb volt jobb arteria coronaria (RCA) thrombusokban, mint a femoropoplitealis régióból származókban, ugyanígy alacsonyabb volt bal anterior descendens coronaria (LAD) thrombusokban, mint ilio-femorális eredetűekben (2. ábra).

2. ábra: Fluoreszcens fibrin/vérlemezke lefedettség arány átlaga (FP50) coronaria és perifériás thrombusokban. Coronaria (A), perifériás (B), jobb a. coronaria (C), femoropopliteális (D), bal anterior descendens coronaria (E), ilio-femorális (F) lokalizáció.



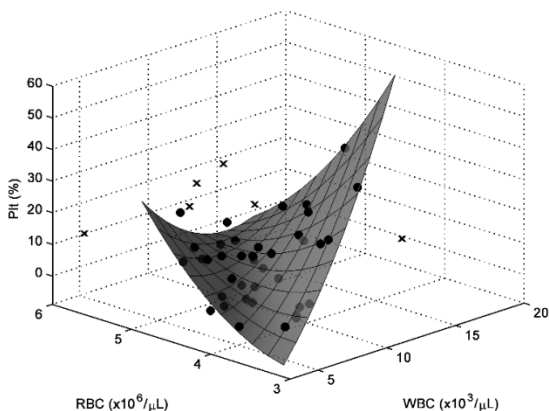
Coronaria thrombusok adatainak regressziós analízisével pozitív korrelációt találtunk a FP50 és az érátmérő között: 2.6 mm felett a koszorúér nagysága alacsonyabb

relatív intrathromboticus vérlemezke-tartalommal társult ($R_{adj}^2 = 0.51$, $P=1 \times 10^{-7}$). Pásztázó elektronmikroszkóppal a teljes fibrintartalom szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult coronaria thrombusokban ($P < 0.01$). Míg a coronaria thrombusok finom szerkezetű, vékony szálakból álló fibrint tartalmaztak, a perifériás thrombusokra a durvább, vastagabb szálakból álló, nagy pórusméretű fibrinháló volt jellemző. A fibrin szálamérő mediánja coronaria thrombusokban 122 nm, perifériás thrombusokban 135 nm volt ($P < 0.05$).

A szisztémás sejtszámok és az aggregáció-gátlók hatása

Coronaria thrombusokban regressziós analízissel a vérlemezke-tartalom mind magas, mind alacsony haematocrit esetén magasabb volt, mint köztes értékeknél ($R_{adj}^2 > 0.7$). A thrombus vérlemezke-tartalmának függése a szisztémás thrombocytaszámtól perifériás thrombusokban *J*-alakú regressziós modellekkel volt leírható ($P < 0.05$), 250.000/ μ L vérlemezke-szám felett a vérrög thrombocytá-tartalma párhuzamosan nő a szisztémás thrombocytaszámmal. Perifériás thrombusokban az aggregáció-gátló premedikáció kifejezett, az összefüggést erősítő hatással bírt. A dohányzás és a dyslipidaemia a vér – thrombus vérlemezke-tartalom összefüggést fokozták. Több paraméteres modellek alapján a szisztémás fehérvérsejt- és vörösvértestszám együttesen befolyásolta a perifériás

vérrögök vérlemezke-tartalmát néhány alcsoportban, pl. nőkben ($R_{adj}^2=0.70$), atheroscleroticus ($R_{adj}^2=0.59$, 3. ábra) és nem diabeteses ($R_{adj}^2=0.68$) betegekben.

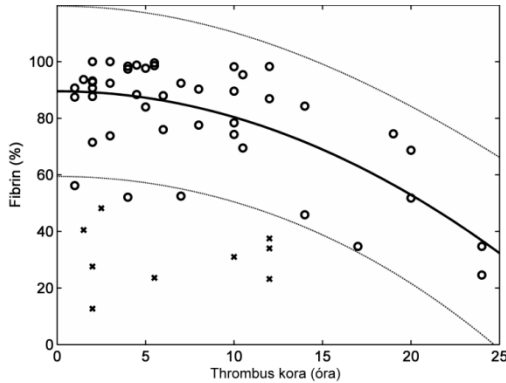


3. ábra: A sejt számok hatása a thrombus vérlemezke-tartalmára atheroscleroticus perifériás érbetegekben

A thrombusok korának hatása

A kialakulásuktól eltávolításukig eltelt idő jelentősen különböző tartományban mozgott a két fő csoportban: a coronaria csoportban a nagyon régi (>300 órás) thrombusok fibrin tartalma közelítőleg megegyezett a friss thrombusokéval ($R_{adj}^2=0.41$). Amennyiben a regressziót friss (<24 órás) thrombusokra korlátoztuk, negatív korreláció jelent meg a fibrin tartalom és a thrombus kora között ($R_{adj}^2=0.46$, 4. ábra). Perifériás

thrombusokban a vérlemezke-tartalom és a thrombus kora között fordított U-alakú függést találtunk ($R_{adj}^2=0.56$), kifejezett pozitív korrelációval az első 7 napban ($R_{adj}^2=0.57$).



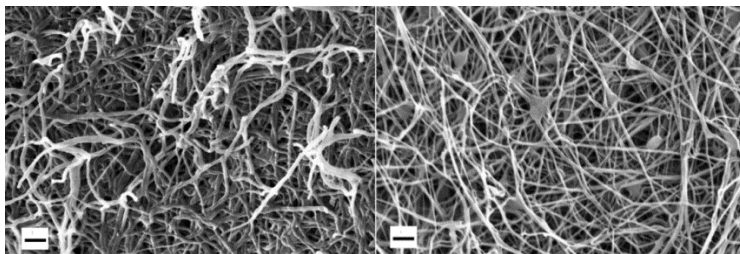
4. ábra: Az idő hatása a vérrög fibrintartalmára coronaria thrombusokban

A dohányzás, mint a vérrög szerkezeti determinánsa

A fibrintartalom figyelemre méltó különbsége jelent meg dohányzó és nem dohányzó coronaria betegek között. Míg az átlagos fibrintartalom nem dohányzók esetén 62.2% volt, dohányosoknál 78.14%-os értéket ért el ($P<0.05$). A fibrintartalom fenti alakulásával összhangban a FP értékek is szignifikánsan alacsonyabbak voltak nem dohányzóknál (átlag 0.24), mint az aktívan dohányzók között (0.86) a teljes betegmintában ($P<0.01$).

CPB és arginin hatása a fibrinszerkezetre

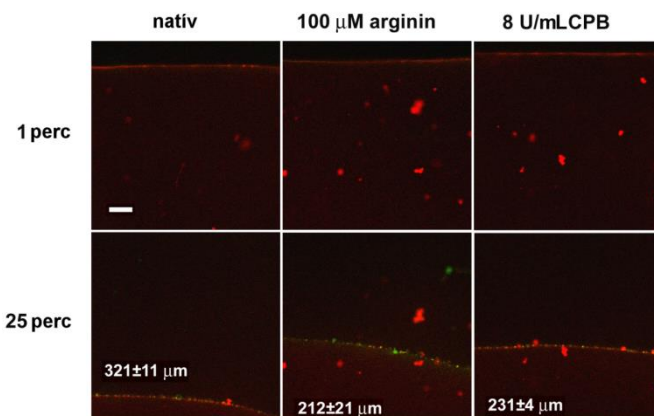
Az alvadás idején jelenlévő CPB, amely a TAFI stabil analógja, már a lysis kezdete előtt is hatást gyakorol a fibrin turbiditására: pásztázó elektronmikroszkóppal CPB jelenléte fiziológiás koncentrációjú fibrinogén alvasztásakor a fibrin szálátmérő 21-25%-os csökkenését eredményezte (5. ábra). Minthogy a natív fibrinogén molekula nem tartalmaz hasítóhelyet (C-terminális lizint vagy arginint) a CPB számára, tiszta rendszerben a CPB egyetlen szubsztrátja a thrombin által leválasztott fibrinopeptidek C-terminális argininje lehet. Arginin jelenlétében a fibrinszerkezet fentivel azonos változásait figyeltük meg.



5. ábra: A fibrin ultrastruktúrájának módosítása CPB által.

CPB hatása a lysisre, arginin hatása a lysisre

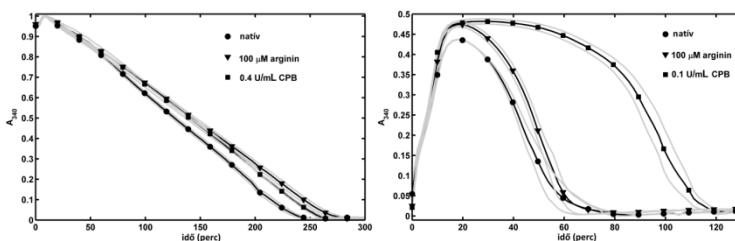
Konfokális mikroszkóppal vizsgálva a CPB által módosított fibrin tPA indukálta lysisét, az szignifikánsan lassabb volt a natív fibrinhez képest (6. ábra).



6. ábra: Arginin és CPB hatásai a tPA-YFP fibrin-penetrációjára a lysis folyamata során

A lysis kinetikáját turbidimetriával követve, felszínről indított lysis során a CPB 8 U/mL koncentrációnál fejtette ki maximális gátlóhatását és hasonló szintű gátlás volt megfigyelhető már 2 μ M arginin jelenlétében is. Bár a teljes feloldódásig tartó idő megegyezett, a lysis kinetikája valamelyest különböző volt az arginint és CPB-t tartalmazó rendszerek esetében, amely a két ágens eltérő hatásmechanizmusát veti fel. Ennek pontosabb karakterizálására két mérést állítottunk össze. Az egyiknél szintetikus plazmin szubsztrát felhasználásával csak a plazmin keletkezését követtük, amit a vártak megfelelően a CPB gátolt, ezzel szemben az arginin fokozott, a teljes lysisre gyakorolt gátló hatás ellenére. A másikon mérési elrendezésben aktív plazmint rétegeztünk a fibrin gélre, kikerülve ezzel a plazminogén

aktiváció fázisát. Ennél a mérési elrendezésnél a tPA-val indított lysishez hasonlóan lassabb oldást figyeltünk meg arginin jelenlétében, váratlan volt ugyanakkor, hogy a CPB mellett létrehozott fibrin érzékenyebb volt a felszíni plazminnal indított degradációra. Ugyanakkor a plazmin fibrinben történő homogén elosztatásával sem az arginin gátló, sem a CPB facilitáló hatása nem mutatkozott. A két mérési elrendezés között tapasztalt eltérő modulációs hatás jelzi, hogy a hatásmechanizmusban szerepe van a plazmin penetráció fibrinszerkezettel kapcsolatos variációjának. A CPB a plazma alvadékok lysisét a tiszta rendszerben használthoz képest már jóval alacsonyabb koncentrációban is hatékonyan gátolta: 0.1 U/mL CPB az 50%-os lysishez szükséges időt kétszeresére növelte, míg 100 μ M arginin minimális befolyást gyakorolt csupán (7. ábra, jobb oldalon). Fibrinfelszínre rétegzett tPA-val iniciálva az oldást, az arginin hatása a 0.4 U/mL CPB jelenlétében tapasztaltal megegyező mértékű volt (7. ábra, bal oldalon).



7. ábra: Arginin és CPB hatása a fibrinolysisre vérplazmában

KÖVETKEZTETÉSEK

- Coronaria és perifériás thrombusok között jelentős szerkezeti különbségek vannak: előbbieket relatív fibrin-tartalma alacsonyabb, vérlemezke-tartalma magasabb, fibrinrostjaik pedig vékonyabbak.
- A kisebb érátmérő inkább a fibrinben szegény, vérlemezkében gazdag thrombusok kialakulásának kedvez, amely jelenség háttérében a kis arteriákban uralkodó magasabb nyíróerők thrombocytadepozíciót serkentő hatása feltételezhető.
- Coronaria thrombusokra és dohányzó betegekből eltávolított thrombusokra a fibrinolysis iránt ellenállóbb fibrinszerkezet jellemző.
- Az áramlási körülmények és a szisztémás sejtszámok nagyban befolyásolják a thrombusok szerkezetét. A vörösvértetek szisztémás számának emelkedésével a thrombusok vérlemezkében gazdagabbá válnak, ugyanakkor alacsony haematocrit értéknél is több vérlemezke kerül a vérrögökbe, mint köztes vörösvértetszám esetén.
- A vérlemezke-gátló szerek a lokális hatásokat elnyomva a szisztémás hatásokat juttatják érvényre a thrombus vérlemezke-tartalmának kialakításában és ugyanilyen hatás feltételezhető a dyslipidaemiás betegek általános gyógyszerének tekinthető statinok esetében is.

- A fibrinszerkezetet a rendelkezésre álló fibrin koncentrációja és a vérlemezkék jelenléte *in vivo* is befolyásolja, minthogy a vérlemezkék hozzájárulnak a lokális thrombin aktivitás emelkedéséhez, amely a fibrinszálak vastagságának talán legismertebb determinánsa a fibrinogén koncentráció mellett.
- A fenti összefüggéseket az esetleges társbetegségek, mint az atherosclerosis és a dyslipidaemia jelentősen erősítik.
- A thrombusok szerkezetének elemzése fontos szempont a terápiás válaszkészség becslésében. E tekintetben a vérlemezke-kitapadást modellező áramlási rendszerben beállított és a bemutatottak alapján az élőbből eltávolított thrombusok kvantitatív elemzésére is jól használható immunfluoreszcens analízis egyszerűsége miatt akár a mindennapi diagnosztikus eszköztárnak is hasznos kiegészítője lehet.
- A TAFI stabil analójként használt CPB és az arginin jelenléte egyaránt a finom szerkezetű, plazminogén aktivációt potenciózó, de a lysis iránt ellenállóbb fibrin kialakulásának kedvez.
- A CPB ugyanakkor segíti a plazmin diffúzióját az alvadék belsejébe, ezért pro-fibrinolyticus hatást is kifejthet.
- A TAFI fentiekből kirajzolódó komplex aktivitása feltétlenül figyelembe veendő az enzimet mint farmakológiai célpontot felvető elképzelések átgondolásakor.

SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Kovács A, Sótonyi P, Nagy AI, Tenekedjiev K, Wohner N, Komorowicz E, Kovács E, Nikolova N, Szabó L, Kovalszky I, Machovich R, Szelid Zs, Becker D, Merkely B, Kolev K. (2015) Ultrastructure and composition of coronary and peripheral arterial thrombi: correlations with clinical and laboratory findings. *Thromb Res*, 135: doi: 10.1016/j.thromres.2015.02.004.

Kovács A, Szabó L, Longstaff C, Tenekedjiev K, Machovich R, Kolev K. (2014) Ambivalent roles of carboxypeptidase B in the lytic susceptibility of fibrin. *Thromb Res*, 133: 80-87.

Wohner N, Kovács A, Machovich R, Kolev K. (2012) Modulation of the von Willebrand factor-dependent platelet adhesion through alternative proteolytic pathways. *Thromb Res*, 129: e41-46.