

A komplement-rendszer szerepe az ischaemiás stroke patomechanizmusában és kimenetelében

Doktori értekezés

Dr. Szegedi Róbert

Semmelweis Egyetem
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Konzulensek: Dr. Prohászka Zoltán, DSc., egyetemi tanár
Dr. Farkas Henriette, DSc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Tóth-Zsámboki Emese Ph.D., adjunktus
Dr. Zubek László, Ph.D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Bereczki Dániel, DSc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Vastagh Ildikó, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Nagy Helga, Ph.D., főorvos
Dr. Valikovics Attila, Ph.D., egyetemi docens

Budapest
2016

TARTALOMJEGYZÉK

1. TARTALOMJEGYZÉK.....	2
2. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	5
3. BEVEZETÉS.....	7
3.1. Az ischaemiás stroke.....	7
3.1.1. Meghatározás.....	7
3.1.2. Etiológia.....	8
3.1.3. Patofiziológia.....	9
3.1.4. Diagnózis.....	10
3.2. Inflammatorikus folyamatok és szerepük a stroke-ban.....	10
3.3. A komplement-rendszer.....	11
3.3.1. A komplement-rendszer összetevői.....	12
3.3.2. A komplement-rendszer három fő effektor funkciója és végrehajtó molekulái.....	12
3.4. A komplement-rendszer aktiválódása.....	13
3.4.1. A komplement aktiváció klasszikus útja.....	15
3.4.2. A komplement aktiválódás alternatív útja.....	16
3.4.3. A komplement aktiváció lektin útja.....	17
3.5. A lektin út sejtfelszíni felismerő molekulái.....	19
3.5.1. Az MBL molekula.....	19
3.5.2. A MASP molekulák.....	20
3.5.3. A fikolinok.....	21
3.6. A lektin út szabályozása.....	22
3.7. A C1-INH molekula és defektusa.....	23
4. CÉLKITŰZÉSEK.....	24
4.1. A komplement-rendszernek szabályozó molekulája, a C1-INH által szerepe lehet az atherosclerosis patogenezisében?.....	24
4.2. A komplement aktiváció lényegi szerepet játszik az akut ischaemiás stroke-ot követő agyszöveti károsodásban/ kórélettani folyamatokban?.....	25
4.3. A komplement-rendszer lektin útjának aktiválódása a mannóz-kötő lektin (MBL) és a fikolin molekulák különböző ligandokhoz történő kötése által	

szerepet játszik akut ischaemiás stroke-ot követő kórélettani folyamatokban?	26
5. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK.....	27
5.1. A komplement-rendszer szerepének vizsgálata az atherosclerosis patogenezisében.....	27
5.1.1. Vizsgálatunk alanyai.....	27
5.1.2. Laboratóriumi módszerek.....	30
5.1.3. Statisztikai elemzés.....	31
5.2. A komplement aktiváció szerepének vizsgálata akut ischaemiás stroke-ot követő kórélettani folyamatokban.....	31
5.2.1. Vizsgálatunk alanyai.....	31
5.2.2. Laboratóriumi módszerek.....	33
5.2.3. Statisztikai elemzés.....	34
5.3. A komplement-rendszer lektin útja aktiválódásának szerepe a mannóz-kötő lektin (MBL) és fikolin molekulák különböző ligandokhoz történő kötése által akut ischaemiás stroke-ot követő kórélettani folyamatokban.....	34
5.3.1. Vizsgálatunk alanyai.....	34
5.3.2. Laboratóriumi módszerek.....	37
5.3.3. Az eredmények statisztikai értékelése.....	38
6. EREDMÉNYEK.....	39
6.1. A komplement-rendszer szerepe az atherosclerosis - mint az ischaemiás stroke fő rizikótényezőjének – patogenezisében.....	39
6.1.1. Az atherosclerosis klinikai manifesztációja és rizikótényezői C1-INH defektussal jellemezhető hereditér angioedémában szenvedő betegcsoportban.....	39
6.1.2. Az arteria carotis communis intima-media rétegvastagsága C1-INH defektussal jellemezhető hereditér angioedémában szenvedő betegekben és egészséges kontrollcsoportban.....	41
6.1.3. Laboreredmények C1-INH defektussal jellemezhető hereditér angioedémában szenvedő betegekben és egészséges kontrollcsoportban.....	43
6.2. A komplement aktiváció lényegi szerepe az akut ischaemiás stroke-ot követő agyszöveti károsodásban/ kórélettani folyamatokban.....	46

6.2.1. Komplement aktivációs termékek és CRP szintek ischaemiás stroke-betegek felvételt követő vérmintáiban és súlyos carotis atherosclerosis-ban szenvedő páciensek kontrollcsoportjában.....	46
6.2.2. A komplement aktivációs termékek szérumkoncentrációinak változása a kórházi felvételt követő első 48 órában.....	47
6.2.3. A SC5b-9 és C4d értékek függetlenek a stroke-betegek MBL-genotípusától.....	49
6.2.4. A kórházi felvételnél detektált komplement aktivációs termékek és a CRP szérumkoncentrációk közötti összefüggés, valamint a stroke klinikai súlyossága.....	49
6.2.5. A kórházi felvételnél detektált magas SC5b-9 érték a stroke klinikai kimenetelével összefüggésben van.....	49
6. 3. A komplement-rendszer lektin útjának aktiválódása akut ischaemiás stroke-ban a mannóz-kötő lektin (MBL) és fikolinmolekulák különböző ligandokhoz történő kötése által.....	52
6.3.1. A lektin aktivációs út fehérjéinek koncentrációi szignifikánsan alacsonyabbnak, a CRP értékek szignifikánsan magasabbnak mutatkoztak ischaemiás stroke-ot elszenvedő betegek szérumában összehasonlítva az egészséges-, és beteg kontrollcsoportokkal.....	52
6.3.2. A kórházi felvételt követően mért fikolin-3 szintek korreláltak a stroke súlyosságának indirekt méréseivel meghatározott eredményekkel és az agyi infarktus kiterjedésével.....	54
6.3.3. A követő mintákban mért fikolin-3 és CRP szintek korrelálnak az akut ischaemiás stroke folyamatának kimenetelével.....	56
6.3.4. Az NIH skála kiindulási pontértéke és a követő mintákban detektált szérum S100B koncentrációk, valamint a betegség kimenetele között lévő negatív korreláció.....	60
7. MEGBESZÉLÉS.....	61
8. KÖVETKEZTETÉSEK.....	70
9. ÖSSZEFOGLALÁS.....	72
10. SUMMARY.....	74
11. IRODALOMJEGYZÉK.....	76
12. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE.....	87
13. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	88

2. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ALP (alkaline phosphatase): alkalikus foszfatáz

ALT: alanin amino-transzferáz (másnéven: GPT)

aOR (adjusted Odds Ratio): korrigált esélyhányados

AST: aszeptát-amino-transzferáz (másnéven: GOT)

BMI (Body Mass Index): testtömeg index

BUN (Blood Urea Nitrogen): vér karbamid-nitrogén

CCA (Common Carotid Artery): arteria carotis communis

CRP: C-reaktív protein

C1-INH: C1-észteráz inhibitor molekula

C1-INH-HAE (Hereditary angioedema with C1-INH deficiency): hereditár angioedema
C1-INH deficienciával

CT: Computer Tomograph

CV (Coefficient of Variation): variációs koefficiens

CVF (Cobra Venom Faktor): kobra mérgező faktor

EKG: elektrokardiográfia

EQ-VAS (EuroQol-Visual Analogue Scale): egészséggel összefüggő életminőség
vizuális analóg skála

EQ-5D (EuroQol-5D): egészséggel összefüggő életminőség skála

ESR: erythrocyta szedimentációs ráta/vörösvérsejt süllyedési sebesség

FVS: fehévérsejt

GGT: gamma glutamil-transzferáz

HAE: herediter angioedema

IMT (Intima-Media Thickness): vérerek intima-media rétegének vastagsága

LDH: laktát-dehidrogenáz

LP (Lectin Pathway of complement activation): a komplement aktiváció lektin útja

MASP (Mannose-binding protein-Associated Serine Protease): mannóz-kötő fehérjéhez kapcsolt szerin proteáz

MBL (Mannose-Binding Lectin): mannóz-kötő lektin másnéven mannóz-kötő fehérje (Mannan-Binding Protein – MBP)

MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin): átlagos hemoglobin koncentráció

MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration): vörösvértestek átlagos hemoglobinkoncentrációja

MCV (Mean Cell Volume): átlagos vörösvértest-térfogat

MRI (Magnetic Resonance Imaging): mágneses magrezonancia képalkotó vizsgálat

NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale): a stroke súlyosságának felmérésére használt nemzetközi skála

PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns): patogénekre jellemző felszíni molekuláris mintázatok

PBS (Phosphate Buffered Saline): foszfát pufferelt sóoldat

PCT: prokalcitonin

PRMs (Pattern-Recognition Molecules): mintázat felismerő molekulák

PRRs (Pattern-Recognition Receptors): patogén ágenseket felismerő receptorok

TIA (Tranziens Ischaemiás Attack): átmeneti ischaemiás roham

t-PA (tissue-type Plasminogen Activator): szöveti típusú plazminogén-aktivátor

VVT: vörösvértest

A komplement-rendszer szerepe az ischaemiás stroke patomechanizmusában és kimenetelében

3. BEVEZETÉS

A cardiovasculáris megbetegedések vezető morbiditási és mortalitási okok között szerepelnek Magyarországon. Az előfordulási gyakoriságuk az életkorral nő, a halálozási ráta meglehetősen magas. A cerebrovasculáris történéseket elszenvedő túlélők gyakran súlyos korlátozottsággal élik tovább életüket. A prevenciós és definitív, kuratív célú terápiás paletta napjainkban is korlátozott effektivitással jellemezhető.

3.1. Az ischaemiás stroke

3.1.1. Meghatározás

A cerebrovasculáris megbetegedések több, olykor súlyos kimenetelű kórképre tagolhatóak: ischaemiás stroke, haemorrhagiás stroke és cerebrovasculáris anomáliák - mint az intracraniális aneurysmák vagy az arteriovenosus malformációk.

A leggyakrabban stroke formájában manifesztálódnak. A stroke neurológiai deficit hirtelen rohamaként definiálható, amely mögött fokális vasculáris ok áll. Következésképpen a meghatározás a klinikumon alapul, amelyet egyéb diagnosztikus lehetőségek – beleértve a képalkotó vizsgálatokat – erősítenek meg.

Mivel jelen tanulmányom tárgya a stroke ischaemiás típusa, ezért a továbbiakban elsősorban az ischaemiás stroke jellemzésére törekszem.

Az agyi ischaemia a vérellátás csökkenésének következménye, amely néhány másodpercnél tovább áll fenn. A neurológiai tünetek pár másodperc alatt megmutatkoznak az idegsejtek szubsztrát hiánya, tehát az energiaellátás károsodása miatt. Amennyiben a véráramlás néhány percnél is tart, az agyszövet infarktusa, azaz elhalása lesz a folyamat következménye. Ha az áramlás gyorsan helyreáll, az agyszövet képes teljes mértékben regenerálódni és a tünetek ebben az esetben csak átmenetiek

lesznek – ez az állapot az ún. *átmeneti ischaemiás roham*, más néven tranzienis ischaemiás attack (*TIA*). A TIA általános meghatározása szerint a neurológiai jelek ill. tünetek 24 órán belül megszűnnek a képalkotó vizsgálatokra tekintet nélkül. Stroke esetén pedig az idegrendszeri jelek, ill. tünetek több mint 24 órán keresztül fennállnak.

3.1.2. Etiológia

Bár az ischaemiás stroke kezdeti terápiája általában nem etiológia függvénye, azonban a kórkép okának megállapítása és a rizikófaktorok identifikálása alapvető fontosságú a másodlagos prevenció szempontjából. Különösen fontos a pitvarfibrillációra és az atherosclerosis-ra fókuszálni, mely tényezők a mindennapi klinikumban egyszerű diagnosztikai metódusokkal azonosíthatóak; és amelyek esetében bizonyítottan sikeres a másodlagos prevenció stratégiák alkalmazása. Arrhythmia eseti vagy 24 órás elektrokardiográfia (EKG) segítségével detektálható. A nemzetközi szakmai ajánlások alapján az atherosclerosis objektív jeleként a carotis communis artériák intima-media rétegének megnövekedett vastagsága (intima-media thickness, IMT) carotis duplex ultrahang vizsgálattal mérhető, és mint a stroke prediktora azonosítható kóroki tényező (1,2).

Az arteria carotisok intima-media rétegvastagságának (IMT) detektálása duplex sonographiával az atherosclerosis általánosan elfogadott rizikómarkere. A carotis IMT mérése megfelelő metódus több kockázati tényező expozíciójának aggregált meghatározásához, ennél fogva nem csak a néhány kiválasztott konvencionális rizikótényezőket kell pusztán figyelembe venni (2). Tanulmányok szerint a megnövekedett IMT (≥ 1.0 mm) az ischaemiás stroke és/vagy a coronaria betegség emelkedett kockázatát jelzi, különösen fiatal betegek esetében (2, 3, 4). Következésképpen a carotis IMT duplex sonographiával történő mérési metódust konvencionálisan szükség lenne alkalmazni szubklinikus atherosclerosis meghatározásánál, mint non-invazív diagnosztikai metódust a közeljövőben.

A legáltalánosabb klasszifikáció szerint /TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) classification/ az ischaemiás stroke típusai (5):

- Nagyerek atherosclerosis talaján kialakuló stroke
- Az ischaemiás stroke esetek 20%-áért cardioembolia tehető felelőssé, ezen csoporton belül kiemelendő a pitvarfibrilláció okozta stroke
- Kiserek occlusiója esetén kialakuló stroke
- Egyéb ok miatt létrejött stroke (pl.: szisztémás vasculitis-ek)
- Meghatározatlan ok miatt kialakult stroke. A stroke esetek 25-39%-ának okára nem derül fény.

3.1.3. Patofiziológia

A stroke klinikai manifesztációja meglehetősen változatos az agy összetett anatómiája és vaszkularizációja következtében.

A cerebrális véráramlás általános csökkenése szisztémás hipotenzió (arrhythmia, myokardiális infarktus vagy haemorrhagiás shock) következtében általában *syncope*-t eredményez.

Egy intracraniális ér akut elzáródása az általa ellátott agyi terület vérellátásának csökkenését eredményezi. A véráramlás redukciójának mértékét a kollaterális keringés működése határozza meg, amely jobb-bal dominanciája által determináltan az individuális vasculáris anatómia és az érelzáródás térfélt elhelyezkedésének függvénye.

Az idő és a keringő vér mennyisége határozza meg, hogy *ischaemia* vagy *infarktus* következik be – előbbi esetben, amennyiben átmeneti és jelentős idegsejtpusztulás nem következik be, akkor *TIA*-ról beszélünk; az utóbbi kázus életfontosságú agyi területeket érintve, akár letális kimenetellel is végződhet.

Fokális ischaemiát vagy *infarktust* általában az agyi erek trombózisa vagy a proximális artériákból vagy a szívből származó embóliák okozzák.

Amennyiben hosszabb ideig áll fenn a csökkent agyi vérellátás, a *major* cerebrális artériák ellátási határterületein *infarktus* alakulhat ki. Súlyosabb esetekben a globális hypoxia-ischaemia kiterjedt agyi sérülést eredményezhet, kognitív következményekkel együttesen *hypoxiás-ischaemiás encephalopáthia* alakulhat ki.

Az infarktus magterületét körülvevő szövetrész az ún. *ischaemiás penumbra*, amely diszfunkciója reverzibilis. Azonban ez a terület infarktussá alakulhat, amennyiben a véráramlás mértékében nem történik változás, következésképpen az ischaemiás penumbra területének megmentése a revascularizációs terápia célja. (6)

3.1.4. Diagnózis

A neurológiai fizikális vizsgálat mellett alapvetően szükséges craniális képalkotó vizsgálat elvégzése annak detektálására, hogy ischaemiás vagy haemorrhágiás stroke-ról van szó. Standard vizsgálati eljárás a haemorrhágiás esemény diagnosztizálására a CT vizsgálat. A penumbra perfúziós-diffúziós MRI vizsgálattal megjeleníthető (7).

3.2. Inflammatorikus folyamatok és szerepük a stroke-ban

A stroke patogenezise összetett folyamat, etiológia függvénye. Közvetve illetve közvetlenül gyulladásos folyamatok szerepet játszanak a bekövetkezésében, lefolyásában és kimenetelében.

A szöveti sérülés során a komplement-rendszer is aktiválódik. Az aktiváció az egyik olyan kórélettani folyamat, amely ischaemiás stroke-ban az ischaemiás – reperfüziós sérülést eredményezi (8, 9, 10).

A komplement-rendszer aktivációja mellett egyéb neuroinflammatorikus folyamatok is ismertek az ischaemiás stroke kialakulása tekintetében (11). A CRP molekulához kapcsolt folyamatokat vizsgálták eddigiekben a leggyakrabban (12).

3.3. A komplement-rendszer

A komplement-rendszer a vérben és más testnedvekben inaktív állapotban jelen lévő, megfelelő triggererek hatására egymással láncreakcióban reagáló fehérjekomponensek kaszkádrendszere, mely fontos szerepet játszik a szervezet védekező mechanizmusában (13).

A természetes (veleszületett, nem specifikus) humorális immunválasz legfőbb végrehajtó ún. effektor rendszereként a fertőzésekkel szemben azonnali válaszreakciót tesznek lehetővé, összeköttetést biztosítanak a természetes és az adaptív immunitás között, valamint részt vesznek a sejtörmelék és az immunkomplexek eliminálásában (14).

3.3.1. A komplement-rendszer összetevői (15):

- *Inaktív faktorok* - szérumban és testnedvekben, melyek egymást aktiválják enzim kaszkád folyamatot eredményezve. A komplement faktorokat különböző alegységekből álló, C1-től C9-ig megjelölt komplexek alkotják.
- *Sejtfelszíni receptorok (CR)* - az aktivált komplement komponensek kötésére
- *Regulátor fehérjék* - szolúbilis és sejtfelszíni molekulák.

A több mint 30 komplement fehérje a szérum globulin frakciójának 12-15%-át teszi ki, azaz igen nagy mennyiségben van jelen, azonban egészséges szervezetben funkcionálisan inaktív állapotban (14).

3.3.2. A komplement-rendszer három fő effektor funkciója és végrehajtó molekulái
(13, 14, 15):

I. Fertőzésekkel szembeni védekezés:

- Lízis (sejtek, baktériumok, gombák, vírusok eliminálása): membránkárosító komplex /Membrane Attack Complex (MAC)/ (C5b-C9_n).
- Opszonizáció és fagocitózis (az antigén ellenanyaggal és/vagy komplement komponensekkel való fedése, mely növeli az antigén részecskék fagocitózisának határfokát): C3, C4.
- Az inflammatorikus reakció stimulációja - Kemotaxis (leukocyt-aktiváció) és diapedesis (leukocyták transzmigrációja az intersticiális térbe): C3a, C4a, C5a és ezek leukocyt-receptorai.

II. Összeköttetés a természetes és az adaptív immunitás között:

- Az immunválasz fokozása és az immunrendszer memóriájának elősegítése: C3 receptorok, C3, C4.

III. Eliminálás:

- Immunkomplexek eltávolítása és a sejtörmelék eltakarítása: C1q, C3, C4.

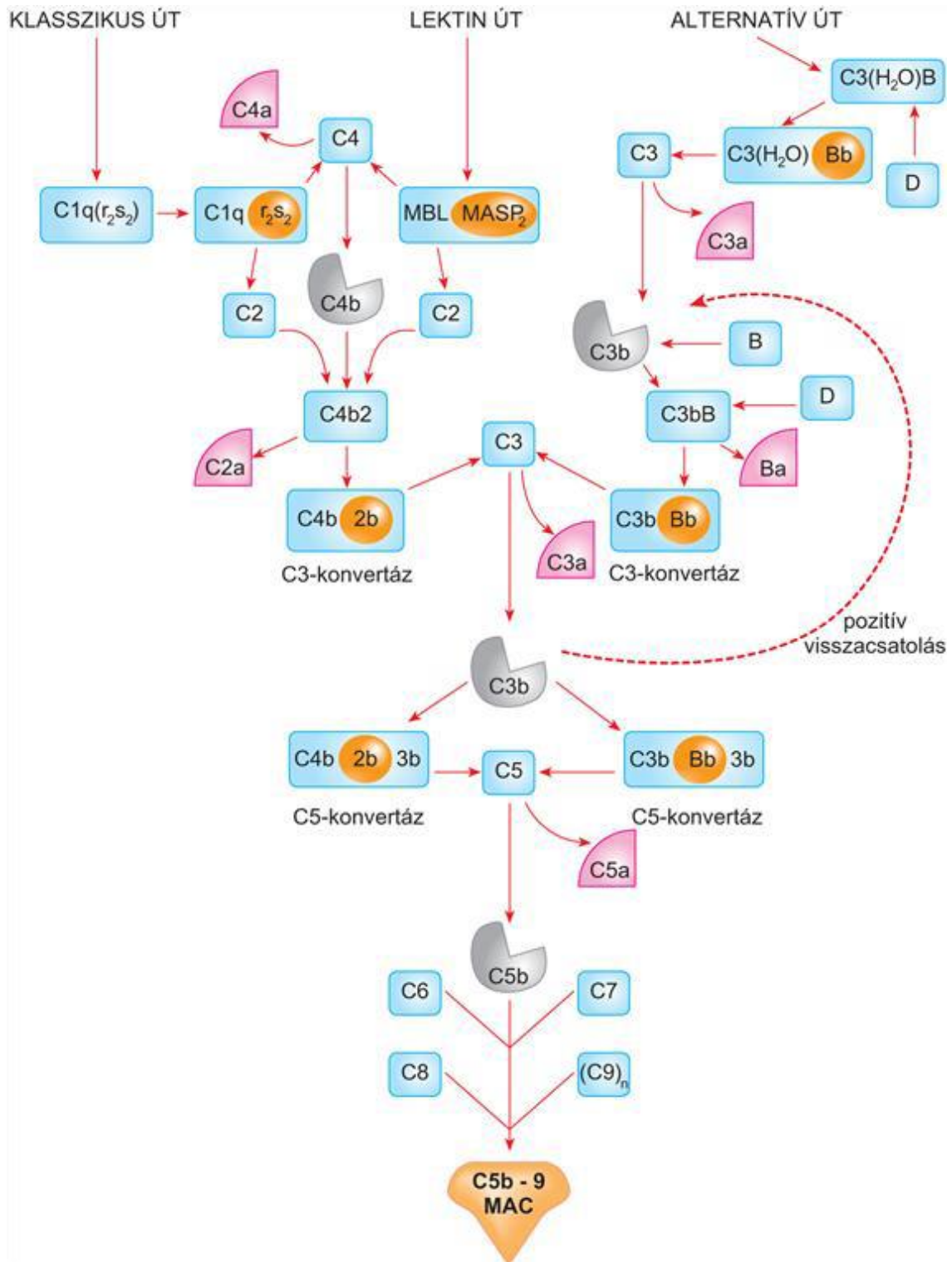
3.4. A komplement-rendszer aktiválódása

A komplement-rendszer aktiválódása az alábbi három úton zajlik:

- Klasszikus út
- Lektin út
- Alternatív út

A komplement-rendszer aktivációja három különböző útvonalon mehet végbe, a klasszikus, az alternatív, a lektin-indukálta útvonalon keresztül, amelyek mindegyike az 1. ábra alapján a C3 limitált proteolíziséhez vezet.

A folyamat a patogénekre jellemző molekuláris mintázatot (Pathogen-Associated Molecular Patterns – PAMPs) felismerő és ahhoz kötődő receptorok által valósul meg. A patogének – amelyek felszínükön hordozzák az ún. PAMPs mintázatot – lehetnek különböző kórokozók (baktériumok, vírusok, gombák, protozoa) vagy malignus transzformáción átesett humán sejtek; azonban az egészséges sejteken nem jellemző előfordulásuk. A patogén ágenseket felismerő receptorok (Pattern-Recognition Receptors – PRRs) a szervezet számos védekező funkciójú sejtjén illetve makromolekuláján is megtalálható: neutrofil és eosinophil granulocyták, makrophágok, dendritikus sejtek illetve a lektineken kívül egyéb makromolekulák – C1q, C3, cytokinek, CRP, etc.



1. Ábra. A komplement-rendszer aktiválódásának útjai

Forrás: Erdei A, Sármay G, Prechl J. Immunológia. Medicina Könyvkiadó Zrt. 2012:196. 7.2. ábra (17)

3.4.1. A komplement aktiváció klasszikus útja

A komplement-rendszer klasszikus útját eltérő természetű anyagok illetve ágensek indíthatják el, mint például: IgG vagy IgM antitestek antigének epitópjaival alkotott komplexei, bakteriális eredetű endotoxinok, baktériumok, vírusok, apoptotikus sejttörmelék, ligandhoz kötött C-Reaktív Protein (CRP) etc. (18)

A C1-komplex létrehozása a komplement aktiváció klasszikus útja során

A klasszikus komplement út első enzime a C1-komplex, amely végleges formában egy négy szerin proteázból álló tetramer (C1r₂s₂) és a C1q molekulából áll, mely utóbbi az immunglobulin antigénköti Fc részéhez kötődik. Elsőként a C1r autoaktivációja következik be: aktív katalitikus régiója feltehetőleg a gyulladás következtében csökkent Ca²⁺-koncentrációra dependens, ennek következtében auto-aktiválódik konformációs elmozdulásai által. Az aktivált C1r a C1s alegységek hasítását eredményezi. (19, 20, 21)

A C3-konvertáz enzim formálódása a komplement aktiváció klasszikus útja során

A C1-komplex a C4-komplext C4a és C4b molekulára képes bontani. A C4b C2-komplexhez kötődését követően a C1s hatására a C2 komplex C2a és C2b molekulára hasad. E kaskád hatására a C2b és a C4b fragmentumokból létrejön az ún. C3-konvertáz enzim (C4b₂b), amely a C3-komplex C3a és C3b hasítási produktumokra történő fragmentációjáért felelős. (17, 22)

A C5-konvertáz enzim létrehozása a komplement aktiváció klasszikus útja során

Az így létrejött számos C3b fragmentum egy része különböző fehérjékhez és az antigének felszínén lévő szénhidrátokhoz kötődve részt vesz az opszonizációban, míg a C3a fragmentumok gyulladásos válaszfolyamatokért felelősek. A C3b fragmentumok másik része pedig a C3-konvertázhoz (C4b₂b) kötődve egy új specificitású komplexet, az ún. C5-konvertáz enzimet (C4b₂b₃b) hozza létre. A C5-konvertáz enzim (C4b₂b₃b) a C5-komplex C5a és C5b alrészekre történő fragmentációjáért felelős. (17, 22)

A membránkárosító komplex /Membrane Attack Complex (MAC)/ képződésének eredménye a sejtlyzisz

A C5a hasítási produktum anafilatoxinként a hízósejteket stimulálva hisztamin-felszabadulást eredményez, inflammatorikus folyamatokat generálva és elősegítve a leukocyták transzmigrációját az intersticiális térbe, vagyis a diapedesis-t. Ezen kívül a C5a fagocita kemoattraktáns – a fagocitákat képessé teszi a pathogen ágens felszínéhez csatolt C3b fragmentumhoz való kötésére, és ez által az opszonizációra.

A C5b fragmentum a C6, C7, C8 és C9 proteinekhez kötődve alkotja az ún. membránkárosító komplexet (röviden: MAC), mely az antitestekkel fedett humán sejtek lipid membránján pórusokat hoz létre. Ez a folyamat a sejtek lízisét eredményezi. Hasonló megsemmisítő folyamat zajlik MAC hatására a burokkal rendelkező vírusokon a szervezetben. A Gram-negatív baktériumok külső és citoplazmatikus membránján a MAC szintén pórusokat létrehozva lízist eredményez. (23)

3.4.2. A komplement aktiválódás alternatív útja

A komplement-rendszer aktiválódásának alternatív útja normál állapotban is folyamatosan zajlik kis mértékben a C3 molekula spontán hidrolízise következtében (13).

A natív C3 molekulában található tiosztér-kötés hidrolízise következtében a C3b-fragmentum B-faktorhoz – a C³ homológához – történő kötése következtében képessé válik patogén ágensekhez történő kovalens kötés létesítésére (24).

A létrejött C3bB molekulát a D-faktor hasítja Ba és Bb fragmentumra, mely utóbbi képezi a C3bBb-t, az alternatív út C3-konvertáz enzimét, amelyhez a properdin proteinkötéssel kapcsolódik, ez alkotja a C3bBbP-komplexet. (25).

A C3-konvertáz nagy mennyiségben hasít C3 fehérjét, a szolúbilis C3b fragmentum és a C3-konvertáz kapcsolódása által jön létre az alternatív C5-konvertáz enzim, amelyet a properdin szintén stabilizál. A C5 molekula hasításával C5a anafilatoxin jön létre és C5b, mely a MAC alkotó fragmentuma (14).

3.4.3. A komplement aktiváció lektin útja (LP)

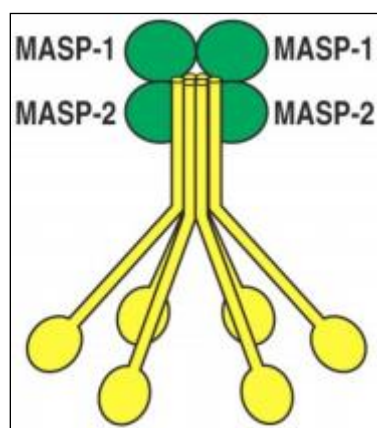
Ez az aktivációs út az iniciátorairól vagyis a *lektinekről* kapta nevét, amelyek szolúbilis, felszíni mintázat felismerő molekulák; a természetes (veleszületett, nem specifikus) humorális immunválaszt teszik lehetővé. (25).

A lektinek csoportjába tartozó molekulák (16, 26, 27):

- az ún. mannóz-kötő lektin molekulák (Mannan-Binding Lectin – MBL) vagy másnéven mannóz-kötő fehérje (Mannan-Binding Protein – MBP);
- a fikolinok – fikolin-1,-2,-3; -H(28); -L;
- kollektinek (kollagén szerű lektinek);

A lektin út aktivációja

A felismerő molekulák (pl.: MBL, fikolinok) hasonló szerepet töltenek be a komplement aktiváció lektin útjának iniciátoraként, mint a klasszikus út aktivátora - a C1q enzim. Két másik fehérje, amely részt vesz a lektin útban: a MASP-1 és a MASP-2, amelyek a klasszikus út C1r és C1s proenzimeivel hasonló módon funkcionálnak, Ca^{2+} -dependens heterodimerek, a felismerő molekulákhoz – mint az MBL, vagy a fikolinok – kötődnek (29).



2. ábra: A MBL szerű proteázokkal alkot komplexet hasonlóan a C1qrs-hez

Forrás: Forrás: Murphy és társai. Janeway's Immunobiology. Fig. 2.29. The proteins of the classical pathway of complement activation. Seventh edition. 2008. 2:67. (15)

A lektin út az MBL illetve a fikolinok mikrobiális szénhidrátok mannóz-csoportjaihoz történő kötésével indul. Ezek olyan mannóz-csoportok, amely számos mikrobiális szénhidrátban megtalálható, de a humán makromolekulákban nem jellemző előfordulásuk. Az MBL és a fikolinok felismerve a patogénekre jellemző felszíni molekuláris mintázatot (PAMPs) az ún. mintázat felismerő molekulák által (pattern recognition molecules –PRMs) az ún. MBL-asszociált szerin proteázokkal (MBL-associated Serine Protease – MASP) komplexet alkotva hasítják a C4 és C2 kompartmenteket létrehozva a C3-konvertázt és ez által aktiválják a lektin útvonalat. A C3-konvertáz pedig a klasszikus úton részletezetteknek megfelelően a C3 komplement komplexet C3a és C3b fragmentumokká osztja, majd a láncreakció a klasszikus útnak megfelelően a C5-konvertáz enzim működésén keresztül a membránkárosító komplex /Membrane Attack Complex (MAC)/ kialakulásához vezet.

PRM ligand kötés nem kíséri közvetlenül a MASP-formálódást annak zimogén állapotából aktív enzimmé alakulásáig, hanem a PRM/MASP komplexek csoportba rendezése által közvetlenül eredményezi az aktivációt. Tehát feltételezhetően a lektin aktivációja különböző felismerő molekulák (MBL, lektinek, etc.) PRM/MASP komplexeinek csoportokba rendezésén alapul, eltérően a klasszikus út konformációs aktivációs modeljétől (30).

Az MBL molekulához hasonlóan a fikolinok is aktiválják a PAMPs felismerés által a MASP-proenzimeket. A fikolin-3 az MBL-től nagyobb intenzitással aktiválja a lektin útvonalat, míg a fikolin-2 az MBL proteinnel azonos mértékben (32).

A kollektinek közül a kollektin-11 az MBL-hez hasonlóan aktiválja a MASP-proenzimeket, így valószínűsíthetően részt vesz a lektin út aktivációjában (33, 34, 35).

3.5. A lektin út komponensei

A lektin út sejt felszíni felismerő molekulái: MBL, a MASP-ok és a fikolinok.

3.5.1. Az MBL molekula

A kollektinek (kollagénszerű lektinek) családjába tartozó glikoprotein. Monomerjeik három azonos polipeptidből állnak. Az izolált fehérje egy N-terminális kötő régiót, egy hosszú kollagénszerű domént, egy rövid α -helikális nyakat és egy C-terminális szénhidrát felismerő lektin domént (glucocorticoid response domain) tartalmaz (36, 37).

Az emberi MBL koncentrációja széles tartományban mozoghat, általánosságban 1-5 $\mu\text{g/ml}$ (38, 39). Az aktuális értékeket elsősorban a genetikai determináció határozza meg, de befolyásolják a környezeti hatások, mint pl.: gyulladás, infekció - akut fázis fehérje funkciót betöltve szintje ekkor megsokszorozódik (40).

Az MBL molekula szerepet tölt be a komplement aktivációban feltehetőleg a MASP-2-vel kapcsolódva (26) fagocitózist elősegítve apoptotikus sejtekhez kötődve; daganatsejtekhez kapcsolódva citotoxicitást eredményezhet; citokin-válaszreakcióban inflammatorikus folyamatok során (41, 43).

Oxidatív stresszt követő komplement aktiváció során a lektin aktivációs útvonal szerepet tölthet be az ischaemiás-reperfúziós folyamatokban (44).

3.5.2. A MASP molekulák

A „MASP” (Mannose-Binding lectin Serine Protease) molekuláknak eddigiekben három típusa ismert:

MASP-1

A vérben az egyik legmagasabb koncentrációban megtalálható, lektin út aktivációjához köthető sejt felszíni molekula, átlagos koncentrációja meghaladja a 10 µg/ml-t (45). A MASP-2 egyetlen aktivátora (és esetlegesen a MASP-3-at hasítja), amely aktiváció által a MBL-MASP és a fikolin-MASP által a lektin utat aktiválja (31, 42, 46, 47); valamint részt vesz a C3-konvertáz enzim létrejöttében (48, 49, 50, 51).

MASP-2

Proenzimként kering a vérben – az előző molekulához viszonyítva szignifikánsan alacsonyabb – 0,5 µg/ml átlagkoncentrációban (52). Az előzőekben részletezett MASP-1 aktiváció hatására kórokozó sejt felszíni szénhidrát-partikulumokhoz kötődő lektinekhez asszociálódva eredményezi a C3-konvertáz létrehozását.

MASP-3

Vérben átlagos koncentrációja 5 µg/ml. A MASP-1-gyel és a MASP-2-vel kompetícióban van, ezáltal szabályozó szerepet feltételeznek neki a MAp44 és MAp19-cel egyetemben. Hasítja a proenzimatikus formáját a D faktornak, valamint mutációját kapcsolatba hozták a 3MC szindrómával. A fikolin-3 molekulával komplexet képezve a komplement-rendszer szabályozásában vesz részt a C4-fragmentáció redukcióját eredményezve. (47, 53, 72).

3.5.3. A fikolinok

A lektinek családjába tartozó glikoproteinek, amelyek monomerje egy kollagénszerű szárat, valamint egy fibrinogénszerű, szénhidrát-felismerő alegységet tartalmaz (17). Három különböző fikolin molekula ismert az emberi szervezetben: a fikolin-1,-2,-3; amelyeket az FCN1,2, illetve 3 gének kódolnak (54).

Egészséges szervezetben a fikolin-2,-3 a szérumban és a plazmában aránylag magas koncentrációban van jelen, míg a fikolin-1 jóval alacsonyabb. A fikolinok három szerin-proteázhoz kapcsolódnak (MASP-1, -2, -3), ezáltal aktiválják a komplement-rendszert. A lektin út elsődleges aktivátorának a MASP-2 molekulát feltételezik.

A humán fikolinok típusai

Fikolin-1 (M-fikolin)

Termelődésének helye a monocyták, a lép, a tüdő. Kimutatható a keringő monocyták és granulocyták felszínén, a vérszérumban és az alveoláris epithelsejtekben.

Feladata a komplement-rendszer aktivációja, illetve fagocitózis elősegítése. Átlagos szérumszintje 0,60 µg/ml. (55, 56, 57, 58, 59, 60, 61)

Fikolin-2 (L-fikolin)

Termelődésének helye a máj. A vérszérumban mutatható ki. Feladata alapvetően a komplement-rendszer aktivációja és az opszonizáció. Heterogén funkciója révén képes egyes baktériumtörzsek (pl: Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli) poliszacharid-láncaihoz kötődni.

MASP enzimekkel komplexet alkotva és a bakteriális poliszacharidláncokhoz kötődve a komplement-rendszer lektin útjának aktivációját, valamint opszonizáció által fagocitózist eredményez. Átlagos koncentrációja 3 µg/ml. (62, 63, 64)

Fikolin-3 (H-fikolin)

Termelődésének helye a tüdő és a máj. Megtalálható keringő monocyták felszínén, az alveoláris epithelsejtekben. MASP molekulákkal komplexet alkotva a komplement-rendszer lektin útját aktiválja, valamint opszonizáció által fagocitózist eredményez. Átlagos koncentrációja 25 µg/ml. (65, 66, 67, 68)

3.6. A lektin út szabályozása

Bizonyítottan vagy feltételezhetően számos molekula szabályozó funkciót tölt be a lektin út aktivációjában.

Az eddigiekben részletezettek alapján az aktivációban érdemi résztvevő az MBL molekula komplexet alkotva a MASP-1,-2,-3 molekulákkal (69).

Inhibitor szerepet tulajdonít a szakirodalom például az alfa-2-makroglobulin, az antithrombin-III, vagy a C1-inhibitor (C1-INH) molekulának - amelyek az MBL-MASP-1/-MASP-2 komplex gátlásán keresztül fejtik ki hatásukat, azonban a MASP-3 molekulával nem kapcsolódnak (48, 49, 50, 71).

3.7. A C1-INH molekula és defektusa

A C1-észteráz inhibitor molekula (C1-INH) négy enzimszisztéma proteáz enzimjeire fejti ki gátló hatást, úgy, mint a komplement-rendszer, a kinin-kallikrein, a koaguláció és a fibrinolysis rendszere. A komplement-rendszer klasszikus és lektin útjának szabályozó molekulája – a klasszikus út során a C1r és C1s fragmentumokhoz kötődve fejti ki inhibitor funkcióját, a lektin úton pedig a fentiekben említett MBL-MASP-1/-MASP-2 komplex gátlásán keresztül.

A hereditár angioedéma (HAE) kórkép négy fenotípusát különböztetjük meg, ezen belül a C1-INH gén defektusai eredményezik a betegség két fenotípusát (C1-INH-HAE). Az I. típus a csökkent mennyiségben termelődő C1-INH molekulán, a II. típus a diszfunkcionális C1-INH-molekula expresszióján alapul. A további fenotípusok közül a III. típus a XII. faktor mutációjának következménye, a IV. típusba pedig az ismeretlen etiológiájú angioedémákat sorolják.

A C1-INH defektusa következtében a klasszikus, illetve a lektin komplement aktivációs út gátló mechanizmusa alulszabályozott. A lektin út megváltozott szabályozása tekintetében elsősorban a ficolin-lektin aktiváció játszik domináns szerepet a C1-INH-HAE patomechanizmusában szemben az MBL-lektin aktivációval (70). A kinin-kallikrein rendszer gátlásának csökkenésével bradykinin szaporodik fel (73), amely az érfalak permeabilitásának fokozódásához, ez által az arc, a törzs, a végtagok subcután szöveteinek, illetve a felső légutak, vagy a gastrointestinalis traktus nyálkahártyájának ödémás duzzanatához vezet. (74, 75) . A bradykinin molekulának a subklinikus atherosclerosis folyamatában is szerepe van endotheliális dysfunkciót és gyulladást eredményezve (76, 77). A C1-INH- HAE kezelésének két alappillére az akut oedémás epizódok profilaxisa, valamint a már kialakult ödémás roham kezelése (78, 79). A danazol – amely egy szintetikus, enyhe androgén hatású ethinil-tesztoszteron származék –, az egyik leggyakrabban alkalmazott hatóanyag hosszú távú profilaxis céljából. Hatásmechanizmusát tekintve fokozza a májban, valamint a polymorphonuclearis sejtekben a C1-INH termelődését - a C1-INH-szintet 3-4-szeresére, a C4 komplement-szintet akár 15-szörösére képes növelni- ez által magának a C1-INH molekulának illetve hatásának hiányát orvosolni, megelőzni az oedémás epizódokat korrigálva a patológiás biokémiai mechanizmusokat (80), ugyanakkor a gyógyszer számos mellékhatásával is kell számolni (82). Ezek közül az atherosclerosis szempontjából a proatherogen lipid profil megváltozás emelhető ki (83).

4. CÉLKITŰZÉSEK

Az akut ischaemiás stroke patomechanizmusában kétségtelenül szerepet játszanak inflammatórikus folyamatok. (11) Következésképpen a komplement-rendszer elemeinek, mint a gyulladás molekuláris mediátorainak is nyomon követhetőnek kell lenniük a kórélettani történések során. A gyulladás intenzitásával és kiterjedtségével korrelál az akut agyi történés súlyossága és kimenetele, természetesen az érintett terület funkcionalitása függvényében.

Kutatómunkám során az alábbi feltevésekre kerestem a válaszokat:

4.1. A komplement-rendszernek szabályozó molekulája, a C1-INH által szerepe lehet az atherosclerosis patogenezisében?

Az ischaemiás stroke egyik markáns prediktora az atherosclerosis. Korábbi tanulmányok valószínűsítették, hogy a komplement-rendszer fontos szerepet tölthet be az atherosclerosis patogenezisében (84). Kutatócsoportunk ismeretei szerint eddigiekben még nem vizsgálták a komplement-rendszerre regulátor hatással bíró C1-INH molekulának, illetve hiányának lehetséges hatását az atherosclerosis kialakulásának folyamatára.

Következésképpen kutatásunk egyik lényegi célkitűzése volt a C1-INH defektus miatt hereditár angiooedémában szenvedő betegek körében az atherosclerosis klinikai manifesztációjának vizsgálata az arteria carotis communis (CCA) intima-media vastagságának (IMT) meghatározásával carotis duplex sonographia vizsgálat során. Ezt követően célunk az volt, hogy indirekt módon a komplement-rendszer szerepét vizsgáljuk az atherosclerosis kialakulásának folyamatában.

4.2. A komplement aktiváció lényegi szerepet játszik az akut ischaemiás stroke-ot követő agyszöveti károsodásban/ kórélettani folyamatokban?

Kevés tanulmány vizsgálta eddigiekben ischaemiás stroke betegekben a komplement-rendszer aktivációját. Pedersen és társai a SC5b-9 komplement aktivációs termék szintjét mérték sorozatosan 11 stroke-betegben és a felvételt követő 7. napon észlelték a csúcspontokat (85). A korábbiakban Mocco és társai ischaemiás stroke-ot követően a C3a koncentráció szignifikáns emelkedéséről számoltak be (86).

Tanulmányunk célja annak megállapítása volt, hogy vajon a nyomon követhető komplement aktivációs termékek plazmakoncentrációi magasabbak-e ischaemiás stroke-ot elszenvedett betegek esetében, mint a kontrollcsoport vonatkozásában.

Továbbá meg kívántuk állapítani, hogy van-e korreláció a komplement aktivációs termékek szintjei, valamint a klinikai állapot súlyossága és a stroke kimenetele között.

A komplement aktiváció három különböző útjának (klasszikus, alternatív, lektin) szerepét szintén vizsgáltuk tanulmányaink során.

Köztudott, hogy a nem-komplement mediálta inflammatorikus folyamatok – mint a C-Reaktív Protein (CRP), akut fázis fehérjék – a cerebrális infarktus kialakulásával összefüggésbe hozhatóak. A korai ischaemiás stroke-ot követően mért CRP-szintek pozitív korrelációt mutatnak a betegség súlyosságát illetően (12, 87, 88). Mindezek következtében a komplement aktivációs termékekkel párhuzamosan ugyanazon mintákban detektáltuk a CRP-szinteket és tanulmányoztuk a CRP koncentráció hatását a komplement aktiváció és a stroke súlyossága-kimenetele közötti kapcsolatra illetve fordítva.

4.3. A komplement-rendszer lektin útjának aktiválódása a mannóz-kötő lektin (MBL) és a fikolin molekulák különböző ligandokhoz történő kötése által szerepet játszik akut ischaemiás stroke-ot követő kórélettani folyamatokban?

Számos kutatás adataiból lehet következtetni arra, hogy a komplement aktiváció lektin útjának szerepe van az ischaemiás stroke kórélettani folyamatában. A lektin út aktiválódhat az MBL, a fikolin-1,2,3 vagy a kollektinek különböző ligandokhoz történő kötése által. A lektin út érintettsége vonatkozásában az MBL jelentőségét ischaemiás stroke-ban több klinikai kísérletben már bemutatták, azonban a fikolin molekulák szerepét még nem vizsgálták, következésképpen kutatásaim e két utóbbi proteinre – a fikolin-2, illetve a fikolin-3 molekulára fókuszáltak. (10, 89, 90)

5. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

A vizsgálati módszerek a célkitűzések felsorolásának alapján kerülnek kifejtésre.

5.1. A komplement-rendszer szerepének vizsgálata az atherosclerosis patogenezisében

5.1.1. Vizsgálatunk alanyai

A komplement-rendszer regulátor molekulája a C1-INH, amelynek defektusán alapul egy ritka, jól körülhatárolt betegpopulációval jellemezhető kórkép, a hereditær angioedema (C1-INH-HAE). A Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Karának III. számú Belgyógyászati Klinikáján működik a Magyar Hereditær Angioedema Központ, amely centrum által 2006 márciusáig gondozott, 57 felnőtt beteg került beválogatásra vizsgálatunkba. A vizsgált betegcsoportunk 16-75 év közötti, 35 nő-, és 22 férfibetegből állt. Mindegyik páciens esetében a családi anamnézis, a jellegzetes klinikai tünetek és a komplement vizsgálatok alapján került sor a C1-INH-HAE diagnosztizálásra. 32 beteg az oedematózus epizódok hosszú távú prophylaxisa céljából a Budapest protokollnak megfelelően (81) tartós danazol terápiában részesült 33-200 mg napi dózisban. A nyomonkövetés időtartama 20-288 hónap között változott. 25 beteg szolgált C1-INH-HAE-pozitív kontroll csoportként, akik sosem részesültek elnyújtott prophylaktikus danazol-kezelésben. Páran közülük antifibrinolyticumot, tranexámsavat szedtek alkalmanként, illetve hosszútávon. (1. táblázat).

1. táblázat: A vizsgálatban résztvevő C1-INH-HAE-betegekre vonatkozó statisztika

A számszerű adatok abszolút értékekben (százalékok) és medián értékekben (interquartilis tartomány) kalkuláltak. A p-értékek Mann-Whitney non-parametrikus teszt és (*) Fisher teszt és (†) χ^2 teszt alapján számítottak. Rövidítések: C1-INH-HAE - hereditær angioedema C1 inhibitor deficienciával, TS-tranexámsav.

	Danazzal kezelt C1-INH-HAE betegek	Danazzal nem kezelt C1-INH-HAE betegek	p
n	32	25	
Életkor (évek)	37,72 (25,61–45,51)	31,07 (19,64–43,42)	0,3266
Férfi/nő (%)*	16/16 (50%/50%)	6/19 (24%/76%)	0,0583
C1-INH-HAE I. típus / II. típus (%)*	29/3 (90,3%/9,7%)	20/5 (80%/20%)	0,2799
C1-INH-HAE súlyossága (osztályozás) †	2,00 (1,00–2,00)	4,00 (2,00–4,50)*	<0,0001
1. osztály (súlyos), n (%)	12 (37,5%)	4 (16,0%)	
2. osztály (középsúlyos), n (%)	20 (62,5%)	3 (12,0%)	
3. osztály (enyhe), n (%)	0 (0%)	3 (12,0%)	
4. osztály (elenyésző), n (%)	0 (0%)	9 (36,0%)	
5. osztály (tünetmentes), n (%)	0 (0%)	6 (24,0%)	
Követési idő (hónapok)	72,00 (49,25–108,09)	41,19 (31,92–77,68)	0,0072
Gyógyszerelés			NA
Nem gyógyszeres, n (%)	0 (0%)	6 (24,0%)	
Danazol hosszú távú profilaxis, n (%)	32 (100%)	0 (0%)	
Napi dózis (mg/nap)	100,00 (63,12–148,78)	–	
Kumulatív dózis (g)	220,95 (135,41–504,75)	–	–
TS hosszú távú profilaxis, n (%)	0 (0%)	3 (12,0%)	
Napi dózis (g/nap)	–	1,58 (1,12–1,71)	
Kumulatív dózis (g)	–	1624,00 (1230,25–3138,50)	
Danazol alkalmanként, n (%)	–	3 (12,0%)	
Dózis (mg/alkalom)	–	200,00 (150,00–200,00)	
TS alkalmanként, n%	–	13 (52,0%)	
Dózis (g/alkalom)	–	2,00 (1,72–3,00)	

A betegség súlyossága szerinti besorolás a betegek első éves kezelése során az „Új Módszerek a Herediter Angioedemában szenvedő Betegek Rohamainak Predikciójához, Preveníójához és Kezeléséhez” (*the Novel Methods for Predicting, Preventing, and Treating Attacks in Patients with Hereditary Angioedema – PREHEAT*) alapján és Agostoni és munkatársainak leírása alapján történt (75). Megjegyzendő, hogy a hosszú távú danazol kezelésben részesülő páciensek betegsége súlyosabb volt – 1. klasszifikációba, azaz súlyos; vagy 2. vagyis közepes beosztásba sorolódtak – a C1-INH- HAE kontrollcsoporthoz hasonlítva ($p < 0.0001$, Khí-négyzet teszttel), amely csoport tagjainak a betegség súlyosságán alapuló beosztása a tünetmentes (5. klasszifikációtól) a súlyos manifesztációg (1.beosztás) terjedt. A folyamatos danazol terápia indikációja a C1-INH-HAE kórkép súlyosságának függvénye, ezért lényeges meghatározója a manifesztáción alapuló betegség-klasszifikációnak, ugyanis a súlyosabb megnyilvánulási forma hosszú távú danazol kezelés szükségességét eredményezi. A nyomonkövetés időtartama szignifikánsan ($p = 0.0072$) hosszabb időt tett ki a kezeletlen csoporthoz viszonyítva, egyebekben a két betegcsoport azonos volt.

20 egészséges önként vállalkozó alkotta a C1-INH-HAE-negatív kontrollcsoportot – 12 nő és 8 férfi, 25-65 év közöttiek, medián életkoruk 38,67 év volt. Egyikőjük esetében sem volt érrendszeri betegségre vagy C1-INH-HAE-ra utaló klinikai vagy laboratóriumi eltérés. Az életkor-, és nemi megoszlás statisztikailag szignifikáns mértékben nem különbözött az egészséges kontrollcsoport, valamint a két C1-INH- HAE-betegcsoport tekintetében. Minden, vizsgálatban résztvevő hozzájárulását adta kutatásunkban való részvételéhez. Tanulmányunkat a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottságának jóváhagyásával a Helsink Deklaráció irányelveinek megfelelően végeztük.

Vizsgálatunk minden résztvevőjét kutatásunk keretében 2004 októbere és 2006 decembere között vizsgáltuk. Senkinél sem zajlott midedzalatt akut angioedemás epizód. Antropometriás értékeket (testsúly, testmagasság) detektáltunk és 10 perces nyugalmat követően artériás vérnyomást mértünk a pácienseknél. Vizsgálatunk résztvevői egy kérdőívet is kitöltöttek kutatásunk keretében, amely során családi anamnéziszről nyertünk információt atherosclerosis, hipertonia vagy diabetes mellitus vonatkozásában, amely információk a későbbiekben az orvosi dokumentációk alapján nyertek megerősítést. Ezen kívül a rizikófaktorokat tekintve a korábbi illetve jelenlegi dohányzási szokásokról, munkahelyi stresszről; valamint a legmagasabb iskolai végzettségről érdeklődtünk anamnéziseink során. Kérdőívünk az EuroQol-5D (EQ-5D)

típusa szerint épült fel, amely a betegek önértékelése: öt különböző, egészséget befolyásoló tényezőn (mozgékonyosság, önellátás, általános tevékenységek, fájdalom, szorongás, depresszió) alapuló súlyozott hasznossági index és az egészséghöz rendelt életminőség EuroQol-Visuális Analóg Skáláján (EQ-VAS) méri az egészségi állapotot (91). Rögzítettük az atherosclerosis korábbi orvosi dokumentációkkal alátámasztott klinikai megjelenési formáit, mint például: korábbi akut myocardialis infarktus, coronaria intervenciók, vagy percutan transluminaris coronaria angioplastica, ischaemiás stroke vagy TIA, szignifikáns carotis stenosis, carotis endarterectomia vagy stent intervenció, peripherialis vascularis betegség vagy beavatkozás).

Következő lépésben vérmintákat vettünk könyökvénából és a szérumot azonnal leválasztottuk és lefagyasztottuk -70°C hőmérsékletre a további laboratóriumi lépésig.

Végül valamennyi páciensen carotis duplex ultrahang vizsgálatot végeztünk HP Sonos 2500 rendszerű eszközön detektálva és felvéve a vizsgálatot. Az arteria carotis communis, externa és interna ütőereket mindkét oldalon standard módon vizsgáltuk a Doppler szög 55° és 60° közötti spektrális mértékében. Az arteria carotis interna stenosis diagnosztikus kritériuma csúcs-sebesség systolés és diastolés, valamint az arteria carotis interna/arteria carotis communis hányadosán alapult. Sem a C1-INH-HAE-betegcsoportokban, sem az egészséges kontrollcsoportban nem fordult elő szignifikáns arteria carotis stenosis (a lumen átmérő $>70\%$ -os szűkülete). Az arteria carotis communis (CCA) intima-media rétegvatagságát (IMT) az ún. Atherosclerosis Risk in Communities Study (ARIC) protokoll szerint off-line analízissel határoztuk meg (92).

5.1.2. Laboratóriumi módszerek

Standard biokémiai paraméterek laboratóriumi meghatározását számítógépes laboratóriumi analizátorral végeztük (Cobas Integra 400 and Cobas Mira (Roche, Basel, Svájc)). LDL-cholesterint a Friedewald-formula alapján számítottuk. CRP-szérumkoncentrációkat partikulumokkal erősített immunturbidimetriás assay vizsgálattal detektáltuk.

5.1.3. Statisztikai elemzés

A statisztikai elemzést SPSS for Windows 13.0.1. (SPSS Inc., Chicago, IL, <http://www.spss.com>); és Prism for Windows 4.02 (GraphPad Software, San Diego, CA, <http://www.graphpad.com>) statisztikai szoftverrel végeztük. Mivel számos változó nem Gauss-féle eloszlást követett, non-parametrikus vizsgálatokat alkalmaztunk az elemzés során. Mann-Whitney U teszt segítségével hasonlítottuk össze a két független csoportot és Fisher tesztet alkalmaztunk a kategórikus változók összevetéséhez. Többszörös logisztikus regressziós analízist szintén kivitelezünk vizsgálatunk során. Minden statisztikai elemzés két végpontú volt és $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikáns szintnek. A bemutatott számértékek abszolút értékek (százalékok) vagy medián értékek (interquartilis tartományok), a kivételeket jeleztük.

5.2. A komplement aktiváció szerepének vizsgálata akut ischaemiás stroke-ot követő kóreléttani folyamatokban

5.2.1. Vizsgálatunk alanyai

28 beteg került felvételre 2006 májusa és 2007 júniusa közötti időszakban a Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar Kútvölgyi Klinikai Tömbjének Neurológiai Klinikai Csoportjához ischaemiás stroke diagnózissal, amely betegek megfeleltek vizsgálatunk beválasztási kritériumainak, nevezetesen: akut stroke klinikai tüneteivel bírtak, 18. életévüket betöltötték, a tünetek megjelenését követően több mint 3 óra eltelt, akut CT vizsgálat alapján cerebrális vérzés nem volt valószínűsíthető. Kizárási kritériumaink a következők voltak: TIA (akut tünetek kevesebb, mint 24 óráig álltak fenn), akut myocardialis infarktus diagnózisa az elmúlt 6 hónapban, szepszis/súlyos akut infekció, szisztémás autoimmun betegség vagy ismert malignitás az anamnézisben. Mindezek alapján egy beteget kizártunk a vizsgálatból a felvételt követő 24 óra múlva TIA diagnózissal, valamint egy másik beteget, mivel esetében rheumatoid arthritis és Crohn-betegség szerepelt kórelőzményében. Mindezek alapján 26 beteg (58 és 87 év közötti 10 férfi, 16 nő) képezte vizsgálatunk alanyait. A tünetek megjelenésének medián ideje 7 óra volt, az interquartilis tartomány: 4-24 óra. (2. táblázat)

2. táblázat: A komplement aktiváció szerepének vizsgálatát célzó kutatásunk vizsgálati alanyainak demográfiai és klinikai jellemzői.

Az értékek medián értékek (interquartilis tartomány) vagy abszolút számok (százalékok). Rövidítések: NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale): a stroke súlyosságának felmérésére használt nemzetközi skála, TOAST: Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment, OCSF: Oxfordshire Community Stroke Project, TAI: teljes anterior infarctus; PAI: partialis anterior infarctus; POI: posterior infarctus; LAI: lacunaris infarctus.

	Stroke betegek (n=26)
Medián életkor, évek (interquartilis tartomány)	76,0 (64,0–83,0)
Nem, férfi/nő	10/16 (38,5%/61,5%)
Kórelőzmény coronaria-betegség vonatkozásában	16 (61,5%)
Stroke megelőzően	7 (26,9%)
Perifériális artéria beegység	3 (11,5%)
Hypertonia	22 (84,6%)
Diabetes mellitus	11 (42,3%)
Hyperlipidaemia	18 (69,2%)
NIHSS felvételkor / 6.napon	7 (3-12) / 2 (0-6)
Barthel index felvételkor / 6.napon	68 (14–100) / 93 (35–100)
Módosított Rankin skála felvételkor / 6.napon	3 (1–5) / 2 (0–3)
TOAST altípusok	
Nagy artéria atherosclerosis/	15 (57,7%)
Cardioembolia/	8 (30,8%)
Kis vénás occlusio (lacuna)	2 (7,7%)
Meghatározhatatlan etiológiájú stroke	1 (3,8%)
OCSF klasszifikáció	3 (11,5%) / 14 (53,8%) / 7
TAI/PAI/POI/LAI	(26,9%) / 2 (7,7%)
Klinikai súlyosság, súlyos/enyhe	15 / 11 (57,7% / 42,3%)

Az ischaemiás stroke kezelése az Amerikai Szív és Stroke Társaságok Stroke Tanácsának aktuálisan érvényes irányelve alapján történt (94), egyetlen beteg sem részesült intravénás thrombolysis-ben.

Felvételkor és az azt követő 6. napon a stroke súlyosságát neurológus szakorvos által a National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) (95), a funkcionális negatív tüneteket a Barthel index (96) és a módosított Rankin skála (97) szerint értékeltük. A betegeket a klinikai tünetek, valamint a képalkotó vizsgálatok eredményei alapján súlyos, vagy enyhe stroke csoportokba soroltuk. A páciensektől laborvizsgálat céljából

folyamatosan vérmintákat vettünk a felvételnél, valamint azt követő 24, 48, 72 órával és a 6. napon. Két beteget súlyos stroke következtében a hospitalizáció alatt elvesztettünk, ezért a vérmintasorozat nem lett teljes.

A kontrollcsoportunkat 26 beteg (41-84 év közötti 16 férfi és 10 nő) alkotta, akik szimptomatikus vagy tünetmentes, súlyos fokú carotis atherosclerosisban szenvedtek. A kontroll betegek vonatkozóan az arteria carotis interna 80%-os medián stenosis értéke (interquartilis tartomány: 80-90%) jellemezte. Ezt követően 16 betegen hajtottak végre everziós endarterectomiát (EEA) és 10 betegen percutan transluminális angioplasztikát (PTA) stent-beültetéssel. A viszonyítási alapot képező vérmintákat a beavatkozásokat megelőzően vettük le.

Minden páciens írásos beleegyezését adta kutatásainkban történő részvételéhez. Tanulmányunkat a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottságának jóváhagyásával a Helsinki Deklaráció irányelveinek megfelelően végeztük.

5.2.2. Laboratóriumi módszerek

A komplement aktivációs termékek méréséhez a vérmintákat EDTA-kémcsövekbe gyűjtöttük, a plazmát egy órán belül elkülönítettük és a mintákat azonnal lefagyasztottuk -80°C hőmérsékletre és a komplement aktivációs termékek mérését közvetlenül megelőzően olvasztottuk fel. A fehérvérsejtekből vontuk ki a teljes DNS állományt Miller és munkatársainak eljárását alkalmazván (98). A MBL gén (MBL2) alléljainak meghatározása szekvencia-specifikus primer polimeráz láncreakcióval (PCR-SSP) történt (39, 99).

Kereskedelmi forgalomban lévő ELISA kiteket használtunk a C4d, C3a, SC5b-9 (Quidel, San Diego, CA), C5a (DRG Diagnostics, Marburg, Germany) komplement aktivációs termékek és a humán S100B (BioVendor, Modrice, Czech Republic) mérések detektálásához. A C1rC1sC1-INH komplex meghatározása szintén ELISA módszerrel történt (100) és önkényes egység per mililiter (U/ml) mértékegységben adtuk meg. A szérum CRP koncentrációkat partikulumokkal erősített immunturbidimetriás vizsgálattal mértük automatizált laboratóriumi analizátort alkalmazva (Roche Cobas Integra 400, Basel, Switzerland).

5.2.3. Statisztikai elemzés

A statisztikai elemzést a következő statisztikai szoftver termékekkel végeztük: SPSS for Windows, 13.0.1. verzió (SPSS Inc., Chicago, IL, <http://www.spss.com>); Prism for Windows 4.02. verzió (GraphPad Software, San Diego, CA, <http://www.graphpad.com>). Non-parametrikus vizsgálatokat alkalmaztunk az elemzés során, mivel a változók közül számos nem Gauss-féle eloszlást követ. Minden statisztikai elemzés két végpontú volt és $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikáns szintnek. A bemutatott értékek medián értékek (interquartilis tartományok) formájában ábrázoltak, a kivételeket jeleztük.

5.3. A komplement-rendszer lektin útja aktiválódásának szerepe a mannóz-kötő lektin (MBL) és fikolin molekulák különböző ligandokhoz történő kötése által akut ischaemiás stroke-ot követő kórélettani folyamatokban

5.3.1. Vizsgálatunk alanyai

Ischaemiás stroke-ban szenvedő pácienseket vontuk be vizsgálatunkba, akik két központban kerültek felvételre: a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Klinikai Központjának Neurológiai Klinikájára (49 és 84 év között lévő 20 férfi és 19 nő, összesen: 39 beteg), valamint a Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar Kútvölgyi Klinikai Tömbjének Neurológia Klinikai Csoportjához (58 és 87 év között lévő 10 férfi és 16 nő, összesen: 26 beteg).

Az ischaemiás stroke kezelése az Amerikai Szív és Stroke Társaságok Stroke Tanácsának aktuálisan érvényes irányelve alapján történt (101). Egyetlen beteg sem részesült intravénás thrombolysis-ben.

Kutatásaink során akut ischaemiás stroke első bekövetkezését elszenvedő betegek kerültek beválogatásra.

Minden beteg esetében idegrendszeri képalkotó vizsgálatok történtek – a legtöbb páciensnél agyi MRI vizsgálat, a többi betegnél koponya CT. Haemorrhágiás infarktus a vizsgálatunkba beválogatott pácienseknél nem történt.

Olyan betegek kerültek beválogatásra, akiknél egyértelmű akut klinikai tünetek léptek fel, etiológiára (trombózis vagy embólia okozta lacunáris vagy territoriális infarktusra) tekintet nélkül.

Kizáró okok között szerepeltek: a fertőző betegségek, a stroke-ot megelőző 4 hétben szereplő láz, emelkedett FVS-szám, emelkedett VVT süllyedési sebesség/szedimentációs ráta (ESR) (Westergreen szerint mérve), emelkedett CRP-szint (küszöbérték: < 10 mg/L), emelkedett prokalcitonin (PCT)-szint (küszöbérték: < 0,05 ng/ml), pozitív mellkas RTG eredmény, akut koponya CT során diagnosztizált haemorrhágiás stroke, a kutatásainkban való részvétel elutasítása.

Majdnem minden beteg esetében jellemző volt a magas vérnyomás, emelkedett koleszterin/triglicerid értékek és ezen eltérések kezelése, amely medikáció nem valószínű, hogy hatással bírt a komplement-rendszer aktivációjának lektin útjára.

A stroke-ot követő fertőzések szövődmények nyomon követésére bizonyíték alapú irányelvet követtünk (102) – fizikális és laboratóriumi vizsgálatokat végeztünk: FVS, VVT süllyedés, CRP, PCT, láz, vizeletvizsgálat, mellkas RTG, mikrobiológiai vizsgálatok. E szövődmények általánosságban a 4. napon fordultak elő és a légző-rendszert vagy katéterezéstől függetlenül az urinális traktust érintették, mindezen kívül egyetlen esetben lépett fel thrombophlebitis.

Felvételkor a stroke súlyosságát a National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) szerint értékeltük (95). A vérmintákat a kórházi felvételkor vettük le – a medián idő a tünetek megjelenését követő 7 óra volt a budapesti; 8,5 óra a pécsi kohorszban –, valamint a nyomon követő minták 72 és 96 óra elteltével követően később kerültek levételre.

A pécsi kohorszban öt, a budapestiben négy betegnél lépett fel infekció.

A betegség kimenetelét a módosított Rankin skála alapján értékeltük (97).

Kontrollként 100 egészséges önkéntes és 134 szignifikáns atherosclerosis-ban szenvedő beteg szérumának mintái szolgáltak. A nemzetközi irányelveknek megfelelően szignifikáns carotis atherosclerosisnak minősül a duplex ultrahang vizsgálattal igazolt, 70-100%-os arteria carotis stenosis. Egyéb vasculáris rendellenesség vagy érbetegség vonatkozásában fennálló kockázati tényező esetében indikált a vizsgálat elvégzése.

Egyetlen betegnek sem volt maradványtünete vagy akut ischaemiára utaló tünete. Néhány páciensnél perifériás artériás betegséget vagy coronaria betegséget diagnosztizáltak, e betegeknek carotis duplex ultrahang vizsgálat történt aszimptomatikus carotis stenosis megállapítása céljából. Egyes betegek nem specifikus tünetekkel (pl.: szédülés) bírtak vagy tranziens ischaemiás történésük volt megelőzően, akiknél szintén végeztünk carotis duplex ultrahang vizsgálatokat. Képkötő vizsgálattal diagnosztizált lacunaris stroke nem volt kizáró oka a kutatásban való részvételnek. (3. táblázat)

Tanulmányunkat az intézmények szerint illetékes etikai bizottságok jóváhagyták. A beteg-, és kontrollcsoportokat alkotó személyek írásos beleegyezésüket adták a kutatásban való részvételhez.

3. táblázat: A vizsgálati-, és a kontrollcsoport alanyainak lényegi jellemzői

A vizsgálati csoportot alkotó 65 ischaemiás stroke-ban szenvedő, illetve a kontroll-csoport 100 egészséges önkénteseinek és a betegkontroll-csoportot alkotó 134 szignifikáns atherosclerosis-ban szenvedő beteg jellemzőit az alábbi táblázat részletezi.

*a pécsi illetve (ill.) a budapesti csoportban

	Ischaemiás stroke-ban szenvedő betegek	Egészséges kontroll személyek	Súlyos atherosclerosis-ban szenvedő betegek (betegkontroll)
Vizsgált személyek száma	65	100	134
Nem, férfi/nő	20/19	47/53	88/46
Medián életkor, évek \pm SD	69,8 \pm 9,8	35,5 \pm 9	69,8 \pm 9,9
Medián idő a tünetek megjelenése és a vérvétel között, órák	7,0 ill. 8,5*	-	-
Infekció igen/nem	9/56	-	-
Letális kimenetel igen/nem	7/58	-	-
NIH skála felvételtkor, \geq 16 vs $<$ 16	58/7	-	-
Medián szérum S100B értékek, pg/ml (interquartilis tartomány)	0,27 (0,12-0,93)	-	-
Kimenetel: módosított Rankin skála elbocsátáskor: 0/1/2/3/4/5/6	4/13/14/7/9/7/1	-	-

5.3.2. Laboratóriumi módszerek

Vizsgálataink során a lektin út iniciátorainak, a fikolin-2 (103) és a fikolin-3 (68) molekulák koncentrációit ELISA módszerrel mértük a koppenhágai Righospitalet Klinikai Immunológiai Osztályának Molekuláris Medicina Laboratóriumában. A monoklonális anti-fikolin-2 antitestekkel (FCN216), illetve monoklonális anti-fikolin-3 antitestekkel (FCN334) borított mikrotitráló lemezeket éjszakára foszfát pufferelt sóoldatban (PBS összetétel: 10 mM PO_4^{3-} , 137 mM NaCl, and 2.7 mM KCl, pH 7,4) 4°C hőmérsékleten tároltuk. Az 1:50 illetve 1:640 arányban PBS-T pufferrel (0,05% Tween-20-at tartalmazó PBS) és 1% egér-, valamint marhaszérummal hígított mintákat tripletekben adva a mosott lemezekhez 3 órán keresztül 37°C-on inkubáltuk. A fikolin-2 molekulát biotinilált monoklonális anti-fikolin-2 antitestekkel (FCN219), a fikolin-3-at biotinilált monoklonális anti-fikolin-3 antitestekkel (FCN334) történő éjszakai, 4°C hőmérsékletű inkubáció során detektáltuk. A mosott lemezeket tormaperoxidázzal (horse radish peroxidase, HRP) konjugált sztreptavidinnel egy órán át 37°C-on inkubáltuk. A színreakciót OPD (o-phenylenediamine) szubsztrátot tartalmazó oldattal hívtuk elő és 15 perc után az enzimatikus folyamatot 1M kénsav (H_2SO_4) hozzáadásával állítottuk le. Az optikai denzitást 490 nm-en mértük. A humán szérum keverék standard dilúciós sorozatát minden elemzési mintához hozzáadtuk, mint kontroll mintát. Az elemzési mintákban a detektálás alacsonyabb határértéke fikolin-2 esetében 5 ng/ml, fikolin-3 molekulánál 1 ng/ml. A metódusunkat jellemző inter-assay variációs koefficiens (CV) a fikolin-2 assay vonatkozásában 7,1%, a fikolin-3 assay esetében 4,7%; továbbá az intra-assay CV fikolin-2 assay értéke 4,3%, fikolin-3 assay pedig 3,9%.

A humán S100B koncentrációkat ELISA módszerrel mértük (BioVendor, Modrice, Cseh Köztársaság). Korábbi tanulmányunk során azt tapasztaltuk, hogy a S100B-koncentrációk a stroke kezdetét követő 72 órában a legmagasabbak, ezért a koncentrációkat ebben az időpontban mértük (105).

A CRP értékeket, mint az inflammatorikus paraméterek egyikét, automatizált laboratóriumi analizátort alkalmazva partikulumokkal erősített immunturbidimetriás vizsgálattal határoztuk meg (Roche Cobas Integra 400, Basel, Svájc).

5.3.3. Az eredmények statisztikai értékelése

A statisztikai elemzéseinket GraphPad Prism 3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, <http://www.graphpad.com>) és SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, <http://www.spss.com>) statisztikai szoftverekkel végeztük. A csoportok (vizsgálat alanyai és kontroll alanyok) közötti eltéréseket Mann-Whitney teszttel elemeztük. A változók közötti összefüggések meghatározásához nem-parametrikus Spearman-féle korrelációs koefficiens értékeket számoltunk. Az egy kategórián belüli változókat a χ^2 (Kví-négyzet) teszttel hasonlítottuk össze. A kiválasztott fehérjék szérumszintjei és a stroke kimenetele közötti kapcsolatot a betegek neméhez és életkorához igazított, többszörös logisztikus regresszióval vizsgáltuk. Minden vizsgálat két kimenetellel bírt. Minden adatot medián értékkel jellemeztünk 25 és 75 percentilisek között zárójelekben feltüntetve, az ettől eltérő kivételeket jeleztük.

6. EREDMÉNYEK

Az eredmények a célkitűzések felsorolásának alapján kerülnek kifejtésre.

6.1. A komplement-rendszer szerepe az atherosclerosis - mint az ischaemiás stroke fő rizikótényezőjének - patogenezisében

6.1.1. Az atherosclerosis klinikai manifesztációja és rizikótényezői C1-INH defektussal jellemezhető hereditár angiooedémában szenvedő betegcsoportban

Az atherosclerosis klinikai megjelenésének formáit találtuk 1 esetben 32 danazollal kezelt páciens közül (1/32 (3.1%)); és szintén 1 esetben 24 danazollal nem kezelt HAE betegcsoportban (1/24 (4.2%)) (p=1.0000) a 4. táblázat szerint. Egy 50 éves nőbetegnél – akinél 5.5 évvel ezelőtt danazol prophylaxis-t kezdtek - TIA zajlott le. Egy másik, 60 éves nőbeteg esetében - aki nem részesült danazol prophylaxisban – súlyos peripheriális artériás betegség miatt aorto-femorális bypass graft interventiót hajtottak végre. A danazollal kezelt pácienseknél szignifikánsan magasabb BMI mutatkozott, szemben a kezeletlen C1-INH-HAE-betegek, illetve az egészséges kontrollcsoporttal (p=0.0055 illetve 0.0020). Amint az várható volt, C1-INH-HAE-ben szenvedő betegek függetlenül a danazol kezeléstől alacsonyabb összesített pontszámot értek el az EuroQol-5D életminőség és az EuroQol egészséggel összefüggő életminőség vizuális analóg skáláján az egészséges kontrollcsoport tagjaihoz képest. A C1-INH-HAE-páciensek danazol kezeléstől függetlenül nem különböztek egymástól és az egészséges kontrollcsoporttól az atherosclerosis-ra vonatkozó családi kórelőzményük, a hypertonia vagy a diabetes mellitus társbetegségek, illetve a dohányzás és a munkahelyi stressz tekintetében. A legmagasabb iskolai végzettség vonatkozásában az egészséges kontrollcsoport szignifikánsan magasabb képzettséggel rendelkezett (főiskolai vagy egyetemi diploma), mint a két C1-INH-HAE-betegcsoport. Mindezen megállapításainkat a 4. táblázatban foglaltuk össze.

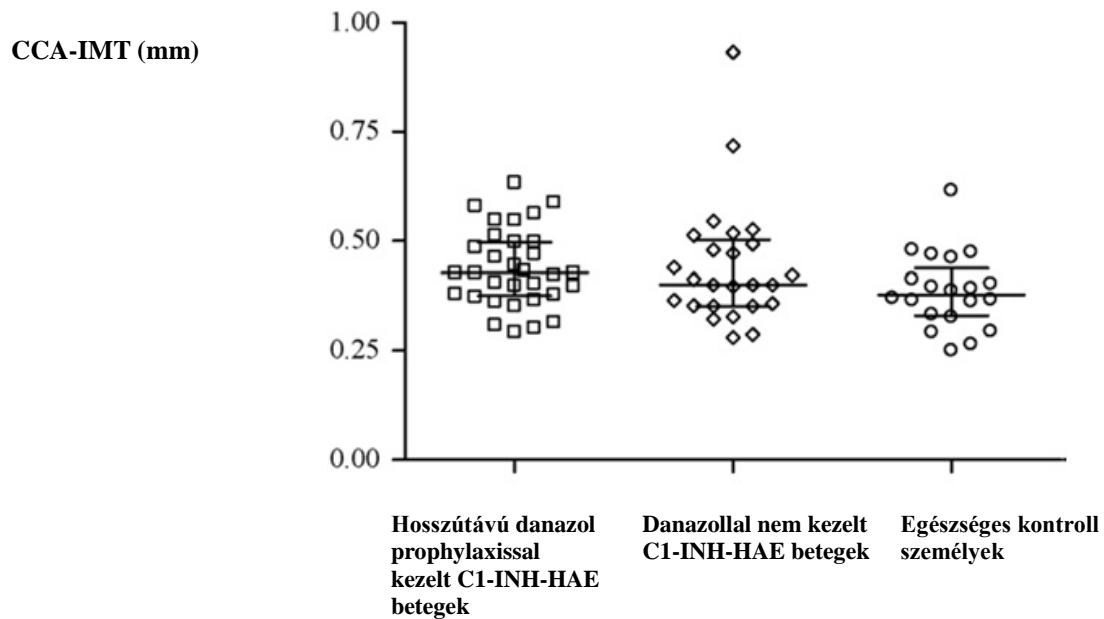
4. táblázat: Az atherosclerosis kockázati tényezői és klinikai manifesztációja C1-INH-HAE betegekben és egészséges kontroll személyekben

A számszerű értékek abszolút számok (százalékok) és medián értékek (interquartilis tartomány). A p-értékeket Fisher-teszt és *Mann-Whitney non-parametrikus teszt alapján kalkuláltuk. Rövidítések: C1-INH: C1 észteráz inhibitor, C1-INH-HAE - hereditár angioedéma C1-INH deficienciával, BMI: body mass index; EuroQol-5D leíró rendszer; EQ-VAS, EuroQol egészséghez kapcsolt életminőség vizuális analóg skálája.

	Danazollal kezelt C1-INH-HAE betegek (1. csoport)	Danazollal kezeltlen C1-INH-HAE betegek (2. csoport)	Egészséges kontroll személyek (3. csoport)	p (1. és 2. csoport)	p (1. és 3. csoport)	p (2. és 3. csoport)
<i>n</i>	32	25	20			
Familiáris anamnézis atherosclerosis vonatkozásában, igen/nem	15/17	7/18	7/13	0,178	0,5648	0,7488
Hypertonia, igen/nem	7/25	2/23	0/20	0,2728	0,035	0,4949
Diabetes mellitus, igen/nem	1/31	1/24	0/20	1,0000	1,0000	1,0000
Dohányzás, igen/soha	12/20	10/15	6/14	1,0000	0,7656	0,5444
Képzettség, magas/alacsony	4/28	2/23	15/5	0,6856	<0,0001	<0,0001
Munkahelyi stressz igen/nem	5/27	2/23	3/17	0,4498	1	0,6423
BMI (kg/m ²)*	26,62 (24,35–31,22)	21,9 (19,03–26,81)	23,66 (21,23–25,47)	0,0055	0,002	0,681
EQ-5D, score*	1,00 (0,77–1,00)	0,83 (0,63–0,96)	1,00 (1,00–1,00)	0,9225	0,0122	0,0089
EQ-VAS, score*	70,00 (69,00–85,50)	65,00 (49,25–83,75)	89,00(80,00–95,00)	0,6748	0,0266	0,0211
Atherosclerosis klinikai manifesztációja, igen/nem	1/31	1/24	0/20	1,0000	1,0000	1,0000

6.1.2. Az arteria carotis communis intima-media rétegvastagsága C1-INH defektussal jellemezhető hereditár angioedémában szenvedő betegekben és egészséges kontrollcsoportban

Kutatásunkban résztvevő valamennyi átlag IMT-érték normál tartományban volt, egyetlen páciens esetében sem volt 1.0 mm, vagy afeletti, amint az 5. ábrán látható.



3. ábra. Az Arteria Carotis Communis (CAA) intima-media rétegvastagsága (IMT).

C1-INH-HAE-betegek és kontroll személyek Arteria Carotis Communis (CCA) átlag IMT-értékei. Danazollal kezelt, illetve kezeletlen C1-INH-HAE-betegek, valamint a kontroll-csoport között nem találtunk szignifikáns eltérést a carotis IMT-értékek vonatkozásában. Egyetlen vizsgált személy esetében sem érte el az átlag carotis IMT az 1,0 mm-t. A vonalak medián értékeket mutatnak, a hibásávok interquartilis tartományokat jeleznek. Rövidítések: C1-INH: C1 észteráz inhibitor, C1-INH-HAE - hereditár angioedema C1-INH deficienciával; CCA: Arteria Carotis Communis; IMT: intima-media rétegvastagság.

Nem találtunk szignifikáns különbséget a hosszútávú danazol-kezelésben részesülő és a kezeletlen C1-INH-HAE-betegek átlag IMT-értékeiben (0.43 (0.38-0.50) mm vs. 0.40 (0.35-0.50) mm, $p=0.5465$). Hasonlóképpen nem találtunk szignifikáns különbséget a C1-INH-HAE-betegek és az egészséges kontrollcsoport átlag-IMT értékei között (0.40 (0.35-0.50) mm vs. 0.38 (0.33-0.44) mm, $p=0.1670$). Danazol kezelésben részesülő C1-INH-HAE-betegek esetében az egészséges kontrollokéhoz viszonyítva nem figyeltünk meg vastagabb IMT-értéket ($p=0.0587$). A magas IMT érték (IMT>0.4617 mm, mint a csoport legmagasabb rétege) vonatkozásában egyváltozós és többváltozós analízist végeztünk, amely során nem találtunk magasabb IMT számokat a danazol-kezelt C1-INH-HAE-betegek vonatkozásában a két kontrollcsoporthoz hasonlítva egyéb tényezőkhöz történő igazítást követően sem az 5. táblázat szerint.

5. táblázat: Egyváltozós és többváltozós analízis

IMT átlagértékek egy-, és többváltozós analízise a csoport legmagasabb (0,4617 mm) vs. középső és a legalacsonyabb rétegében. Független változók: életkor, nem, testtömeg-index (BMI) az 1. modellben; amelyek mellett még a totál cholesterol, HDL, LDL és triglicerid-szintek a 2. modellben; továbbá mindezek mellett még a kreatinin, karbamid-nitrogén (blood urea nitrogen), alanin-aminotranszferáz és C-reaktív protein a 3. Modellben. Rövidítések: IMT: intima-média rétegvastagság, C1-INH: C1 észteráz inhibitor, C1-INH-HAE - hereditár angioedéma C1-INH deficienciával, CI: fiducia intervallum, OR (Odds Ratio): esélyhányados.

IMT, nagy/kicsi	Danazollal kezelt C1-INH-HAE-betegek vs. C1-INH-HAE-betegek			Danazollal kezelt C1-INH-HAE-betegek vs. Danazollal kezeletlen C1-INH-HAE-betegek		
	OR	95%CI for OR	p	OR	95%CI for OR	p
Univariáns	1,067	0,360–3,159	0,907	2,400	0,648–8,883	0,190
1. modell	0,399	0,091–1,755	0,224	4,560	0,645–32,261	0,129
2. modell	0,577	0,077–4,318	0,592	6,356	0,039–1040,474	0,477
3. modell	0,395	0,030–5,211	0,48	1,119	0,000–27295,586	0,983

6.1.3. Laboreredmények C1-INH defektussal jellemezhető hereditár angioedémában szenvedő betegekben és egészséges kontrollcsoportban

Danazollal kezelt betegcsoportban emelkedett koleszterin-koncentrációt mértünk, szemben az egészséges kontrollcsoporttal, azonban nem találtunk szignifikáns különbséget a triglicerid-értékek tekintetében. A danazollal kezelt betegpopulációban szignifikánsan emelkedett LDL-, és alacsonyabb HDL-szinteket mértünk mind a kezeletlen, mind az egészséges kontrollcsoporthoz hasonlítva. A kezelt pánciensek csoportjában szignifikánsan emelkedett CK- aktivitás, ALT, kreatinin, HDL szinteket és alacsony LDL-értéket detektáltunk, továbbá emelkedett vörösvértest-számot, hemoglobin-, és hematokrit-koncentráció mutatkozott a kezelt betegcsoportban. A CRP-értékek enyhén voltak magasabbak a kontrollcsoporthoz viszonyítva. A két kontrollcsoport – danazollal nem kezelt C1-INH-HAE betegek és egészséges kontrollcsoport – csak a karbamid illetve a fehérvérsejt-számban a statisztikai szignifikancia határán belül különbözött ($p=0.0431$ illetve 0.0469). Mindezen értékek a 6. táblázatban találhatóak összegezve.

6. táblázat: C1-INH- HAE-betegek és egészséges kontroll személyek laboratóriumi értékei

Az értékek medián értékek (interquartilis tartomány). A p-értékeket Mann-Whitney non-parametrikus teszt alapján kalkuláltuk. Rövidítések: C1-INH: C1 észteráz inhibitor, C1-INH-HAE - hereditér angioedema C1-INH deficienciával, BUN: vér karbamid-nitrogén, AST: aszpartát-amino-transzferáz, ALT: alanin amino-transzferáz, ALP: alkalikus foszfatáz, GGT: gamma glutamil-transzferáz, LDH: laktát-dehidrogenáz, FVS: fehérvérsejt-szám, VVT: vörösvértest-szám, MCV: átlagos vörösvértest-térfogat, MCH: átlagos hemoglobin koncentráció, MCHC: vörösvértestek átlagos hemoglobinkoncentrációja, CRP: C-reaktív protein.

	Danazzalal kezelt C1-INH-HAE betegek (1. csoport)	Danazzalal kezeletlen C1-INH-HAE betegek (2. csoport)	Egészséges kontroll személyek (3. csoport)	p (1. és 2. csoport)	p (1. és 3. csoport)	p (2. és 3. csoport)
<i>n</i>	32	25	20			
Totál cholesterol (mmol/L)	5,48 (4,69–6,26)	4,96 (4,21–5,72)	4,73 (3,90–5,31)	0,1667	0,3204	0,0149
HDL (mmol/L)	0,90 (0,77–1,24)	1,45 (1,17–1,75)	1,75 (1,41–1,91)	<0,0001	<0,0001	0,1469
LDL (mmol/L)	3,86(2,74–4,56)	2,82 (2,01–4,00)	2,49 (1,85–2,88)	0,006	<0,0001	0,1204
Triglyceridek (mmol/L)	1,03(0,76–1,68)	0,88 (0,65–1,48)	1,07 (0,76–1,30)	0,5518	0,9325	0,6152
Creatinin (umol/L)	78,00 (73,50–87,00)	64,00 (54,50–69,00)	65,00 (62,00–74,75)	0,0001	0,0130	0,1399
BUN (mmol/L)	4,41 (3,44–5,95)	4,10 (4,00–4,52)	4,55 (3,88–5,25)	0,1618	0,3422	0,0431
Húgysav (umol/L)	302,00 (292,00–371,50)	304,50 (227,75–350,50)	248,50 (218,00–288,75)	0,0716	0,0403	0,5993
Totál bilirubin (umol/L)	9,64 (8,62–11,37)	9,58 (7,13–12,26)	8,10 (7,30–11,45)	0,5465	0,0909	0,2993
AST (U/L)	24,00 (21,50–27,00)	16,50 (16,00–41,00)	20,00 (16,00–22,00)	0,1634	0,1974	0,8026
ALT (U/L)	32,00 (22,50–36,00)	17,50 (12,50–49,50)	17,00 (14,00–26,00)	0,0298	0,0457	0,5608
ALP (U/L)	81,00 (66,50–104,50)	68,50 (55,75–88,00)	64,00 (52,25–79,25)	0,7415	0,1454	0,1067

GGT (U/L)	24,00 (10,50–30,00)	18,00 (15,00–25,50)	18,50 (14,00–20,50)	0,4302	0,1718	0,9607
LDH (U/L)	171,00 (159,50–192,00)	170,50 (136,75–184,75)	153,00 (137,25–177,50)	0,8281	0,9167	0,9818
Creatin-kináz (U/L)	149,00 (97,50–188,00)	81,00 (40,50–461,25)	83,00 (66,00–98,00)	0,0007	0,0096	0,1766
Totál protein (g/L)	74,00 (72,00–75,00)	74,00 (67,25–74,75)	77,50 (73,25–79,00)	0,8462	0,0503	0,2991
FVS (10^9 /L)	6,25 (4,98–7,88)	9,06 (6,04–13,40)	6,14 (5,21–7,44)	0,1226	0,3188	0,0469
VVT (10^{12} /L)	4,99 (4,39–5,29)	4,62 (4,01–4,95)	4,50 (4,34–4,88)	0,0567	0,0124	0,5525
Thrombocyta-szám	251,00 (213,00–263,50)	211,50 (189,00–246,00)	243,50 (224,25–277,75)	0,8596	0,4025	0,3148
Hemoglobin (g/L)	148,00 (139,00–156,00)	141,00 (125,75–149,50)	140,00 (128,50–150,75)	0,0012	0,0850	0,337
Hematokrit (L/L)	0,43 (0,41–0,46)	0,43 (0,37–0,44)	0,42 (0,39–0,44)	0,0048	0,0707	0,6146
MCV (fL)	89,00 (85,50–93,50)	92,00 (86,25–94,00)	89,00 (87,00–92,75)	0,6062	0,5778	0,4497
MCH (pg/sejt)	30,00 (29,00–32,00)	31,50 (28,75–32,00)	31,00 (29,25–31,00)	0,6827	0,3057	0,1976
MCHC (g/L)	343,00 (330,00–352,50)	337,50 (330,00–348,75)	338,50 (333,00–346,75)	0,2369	0,6514	0,4237
CRP (mg/L)	1,56 (0,72–5,40)	1,11 (0,58–4,79)	0,86 (0,52–1,93)	0,1666	0,0371	0,4002

6.2. A komplement aktiváció lényegi szerepe az akut ischaemiás stroke-ot követő agyszöveti károsodásban/ kórélettani folyamatokban

6.2.1. Komplement aktivációs termékek és CRP szintek ischaemiás stroke-betegek felvételt követő vérmintáiban és súlyos carotis atherosclerosis-ban szenvedő páciensek kontrollcsoportjában

A következő paramétereket határoztuk meg ischaemiás stroke-betegek felvételekor és hasonlítottuk össze súlyos carotis atherosclerotikus betegek mintáival: öt komplement aktivációs termék (C1rC1sC1inh, C4d, C3a, C5a és SC5b-9), CRP és S-100B – mely utóbbi paramétert Foerch, Singer, Neumann-Haefelin és mtsai is vizsgálták és értékelték, mint akut arteria cerebri media infarktus hosszú távú kimenetelét és az infarktus kiterjedését megjósoló helyettesítő markert (87). (7. táblázat)

7. táblázat: A vizsgálati csoportot képező, ischaemiás stroke-ban szenvedő betegek és a beteg kontrollcsoportot alkotó, súlyos carotis atherosclerotikus betegek öt komplement-aktivációs termékei és a CRP szintjei.

Az értékek medián értékek (interquartilis tartomány) vagy abszolút számok. A p-értékek Mann-Whitney non-parametrikus teszt és *Fisher teszt alapján számítottak.

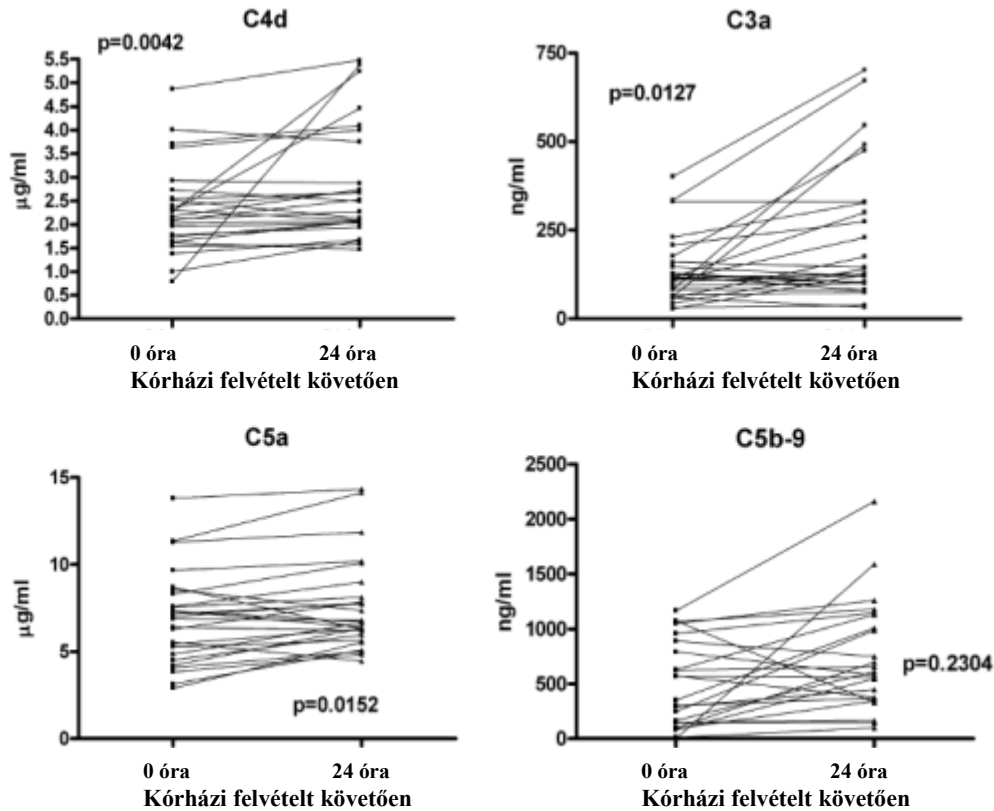
	Stroke-betegek (n = 26)	Beteg kontrollcsoport (n = 26)	p
C1rsC1inh (AU/ml)	69 (42–86)	71 (63–92)	0,2927
C4d (ug/ml)	2,23 (1,72–2,78)	1,08 (0,59–2,35)	0,0053
C3a (ng/ml)	114 (66–164)	107 (38–195)	0,6148
C5a (ug/ml)	6,94 (4,76–8,37)	7,48 (4,39–10,98)	0,3748
SC5b-9 (ng/ml)	596 (163–1067)	187 (104–267)	0,0016
CRP (mg/l)	5,79 (2,37–12,80)	7,13 (2,04–18,10)	0,6084
Életkor (évek)	76,0 (64,0–83,0)	64,5 (53,5–71,5)	0,001
Nem (férfi/nő)	10/16	16/10	0,165*

Eredményeink alapján az SC5b-9 és a C4d koncentrációk szignifikánsan magasabb értékei mutatkoztak stroke-betegekben, mint a kontrollcsoportban ($p < 0.01$ minkét vonatkozásban). Mivel a stroke-betegek szignifikánsan ($p = 0.001$) idősebbek voltak a kontrollcsoportnál, a két betegcsoport közötti eltérést többszörös logisztikus regresszióval vizsgáltuk. Az életkorhoz és a nemhez történt igazítást követően az SC5b-9 koncentrációk között mutatkozó különbség szignifikáns ($p = 0.036$) maradt, azonban a C4d szintekben mutatkozó eltérés elveszítette szignifikanciáját ($p = 0.088$).

A két produktum közül az egyik komplement fehérje (sC5b-9) szintje szignifikáns korrelációt mutatott a stroke súlyosságának fokával, a neurológiai deficit valamint a funkcionális korlátozottság mértékével. (9)

6.2.2. A komplement aktivációs termékek szérumkoncentrációinak változása a kórházi felvételt követő első 48 órában

A kórházi felvétel idejéből származó minták értékeinek meghatározását követően összehasonlítottuk az egymást követően levett minták koncentrációival és azt tapasztaltuk, hogy a legtöbb páciens esetében a C4d, C3a, C5a és C5b-9 emelkedett koncentrációi a 24 vagy 48 órát követő mintákban érték el csúcserőkeiket. 26 vizsgált beteg közül 22 páciens 24. vagy a 48. órában vett mintáiban érték el a C4d szintek csúcserőkeiket; míg a kiindulási értékhez képest csupán 4 beteg esetében volt mérhető csökkenés. Ugyanezen vizsgálati időkben emelkedés volt tapasztalható a C3a és a C5a koncentrációk vonatkozásában 20-20 beteg, a C5b-9 koncentrációt tekintve 19 beteg esetében. A C4d, a C3a és a C5a szintek a felvételt követő első napon emelkedtek szignifikáns mértékben. C5b-9 szintek tekintetében az emelkedés nem volt szignifikáns mértékű. Azon három páciensnél, akiknél felvételt nem a legmagasabb C5b-9 szinteket detektálták, szignifikáns növekedés ($p = 0.0131$) volt mérhető e termék vonatkozásában. Ugyanezen paraméterek tekintetében érdemleges csökkenést vagy növekedést nem találtunk a 72 órában vagy a 6. napon vett mintákban. (4. ábra)



4. ábra: 26 stroke-beteg komplement-aktivációs termékei szintjeinek változása a felvételt követő első 24 órában. A Wilcoxon teszttel számolt p-értékek feltüntetettek.

A kórházi felvételt követően mért SC5b-9 és C3a értékek között pozitív korrelációt tapasztaltunk ($R=0.402$; $p=0.046$), viszont nem volt korreláció a C4d szintek vonatkozásában ($R=0.087$; $p=0.667$). A SC5b-9 kiindulási koncentrációk és ugyanabból a vérmintából vett CRP ($R=0.066$, $p=0.749$), valamint S-100B szintek között ($R=0.080$; $p=0.0699$) nem volt összefüggés, a 3 nappal később mért S-100B koncentrációk tekintetében sem ($R=0.061$, $p=0.768$).

15 beteg részesült antikoaguláns kezelésben: 12 fő aspirin, 2 fő clopidogrel, 2 fő kumarin és 1 fő heparin. Nem volt szignifikáns különbség ($p=0.238$) a C5b-9 értékek felvételt követő nagyságában a kezelt és kezeletlen betegek tekintetében.

6.2.3. A SC5b-9 és C4d értékek függetlenek a stroke-betegek MBL-genotípusától

Vizsgálataink során meghatároztuk a stroke-betegek MBL2-genotípusát. 17 páciens vad allél (A/A) hordozó volt, 9 beteg heterozigóta az allél variáns típusára (A/0). A C4d és C5b-9 koncentrációk szignifikánsan magasabb értékekkel bírtak ($p=0.043$, $p=0.007$) MBL2 A/A betegekben a variáns allélt hordozókhöz képest is.

6.2.4. A kórházi felvételkor detektált komplement aktivációs termékek és a CRP szérumkoncentrációk közötti összefüggés, valamint a stroke klinikai súlyossága

A 26 vizsgált beteget két csoportra osztottuk: 15 súlyos (teljes vagy részleges corticalis kiterjedésű artériás infarktusok) és 11 enyhe stroke (kis corticalis vagy lacunaris infarktus). A felvételkor detektált komplement aktivációs termékeket, S100B és CRP koncentrációkat hasonlítottuk össze (9. táblázat). Az S100B, SC5b-9 és a CRP szintek szignifikánsan magasabbnak bizonyultak azon pácienseknél, akik súlyos stroke-ot szenvedtek el, mint az enyhébb esetek vonatkozásában.

8. táblázat: Enyhe vagy súlyos ischaemiás stroke-ban szenvedő betegek vérmintáiból származó, felvételkor mért, öt komplement aktivációs termék-, CRP-, és S100B-szintjei

Az értékek medián értékek (interquartilis tartomány) vagy abszolút számok. A p-értékeket Mann-Whitney non-parametrikus teszt és *Fisher teszt alapján számították.

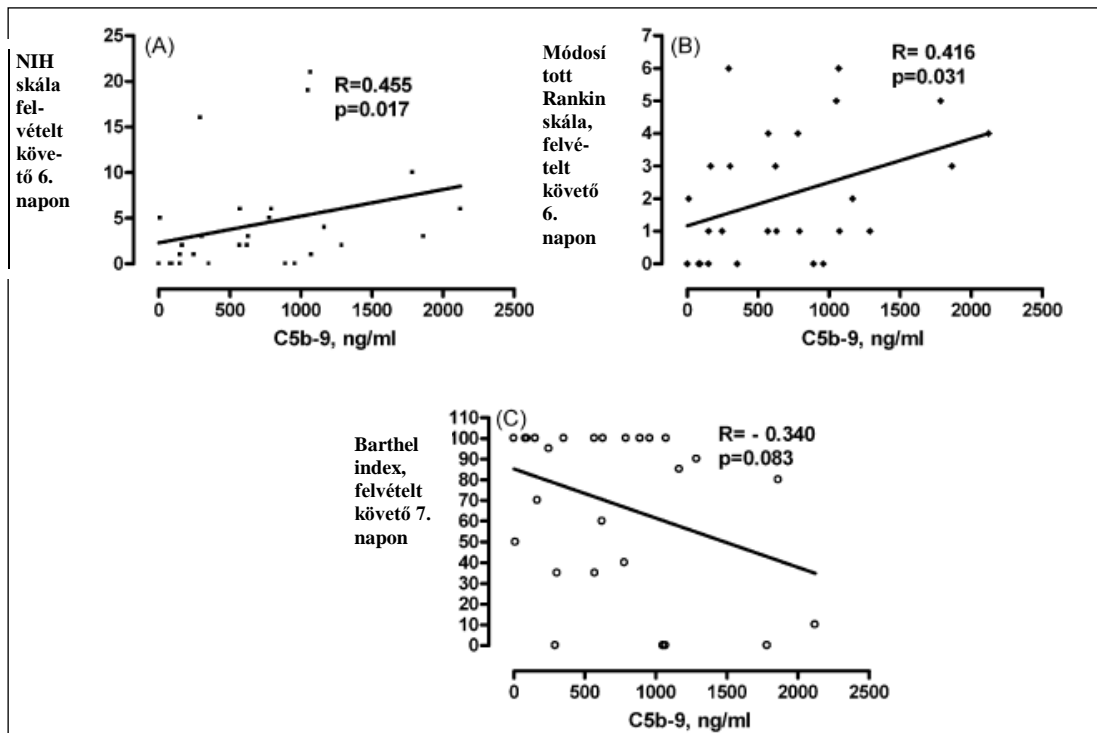
	Enyhe stroke-ban s	Súlyos stroke-ban s	p
C1rsC1inh (AU/ml)	67 (36–85)	72 (42–95)	0,646
C4d (ug/ml)	2,09 (1,54–2,93)	2,29 (1,78–2,73)	0,443
C3a (ng/ml)	121 (44–208)	113 (84–159–208)	0,61
C5a (ug/ml)	6,87 (5,28–8,69)	7,17 (4,52–8,31)	0,919
SC5b-9 (ng/ml)	258 (89–815)	629 (292–1164)	0,048
CRP (mg/l)	2,65 (1,18–7,65)	7,73 (3,66–13,75)	0,027
Életkor (évek)	74,0 (63,0–76,0)	76,0 (66,0–84,0)	0,164
Nem (férfi/nő)	5/6	5/10	0,689*
S100B (pg/ml)	13,4 (2,4–19,3)	45,7 (17,8–81,9)	0,027

6.2.5. A kórházi felvételnél detektált magas SC5b-9 érték a stroke klinikai kimenetelével összefüggésben van

Annak érdekében, hogy megállapítsuk, vajon a kórházi felvételnél levett mintákban detektált SC5b-9 szintek előrejelzik-e stroke kimenetelét, megvizsgáltuk e termék, mint változó és a felvételt követő 7. napon detektált változó és különböző kimeneteli mutatók összefüggését. Az SC5b-9 szintek szignifikáns, pozitív korrelációt mutattak az NIH stroke skálával mért neurológiai deficit mértékével. 5. (A) *ábra*

Hasonló megállapításokra jutottunk a módosított Rankin skálával értékelt negatív tünetek vonatkozásában. 5. (B) *ábra*

Az SC5b-9 koncentrációk a Barthel index alapján vizsgált funkcionális negatív tünetek tekintetében fordított korrelációt mutattak /5. (C) *ábra*/, bár megjegyzendő, hogy ez összefüggés a marginális szignifikancia határán volt.



5. ábra: Ischaemiás stroke-ban szenvedő betegek kórházi felvételkor mért SC5b-9 koncentrációi és a felvételt követő 7. napon értékelt kimeneteli mutatók. A Spearman korrelációs koefficiens értékek jelzettek.

(A) NIH stroke skálával mért neurológiai deficit.

(B) módosított Rankin skálával értékelt negatív tünetek.

(C) Barthel index alapján vizsgált funkcionális negatív tünetek.

Nyolc emelkedett SC5b-9 koncentrációval (>1 μ g/ml, az egész csoport felső harmada) jellemezhető beteg közül egy, míg a többi 18 páciens közül 11 beteg bírt a lehető legjobb Barthel index-szel (102) ($p=0.036$), amely eredmények szintén a korai komplement aktiváció és az ischaemiás stroke kedvezőtlen kimenetele közötti összefüggést támasztják alá.

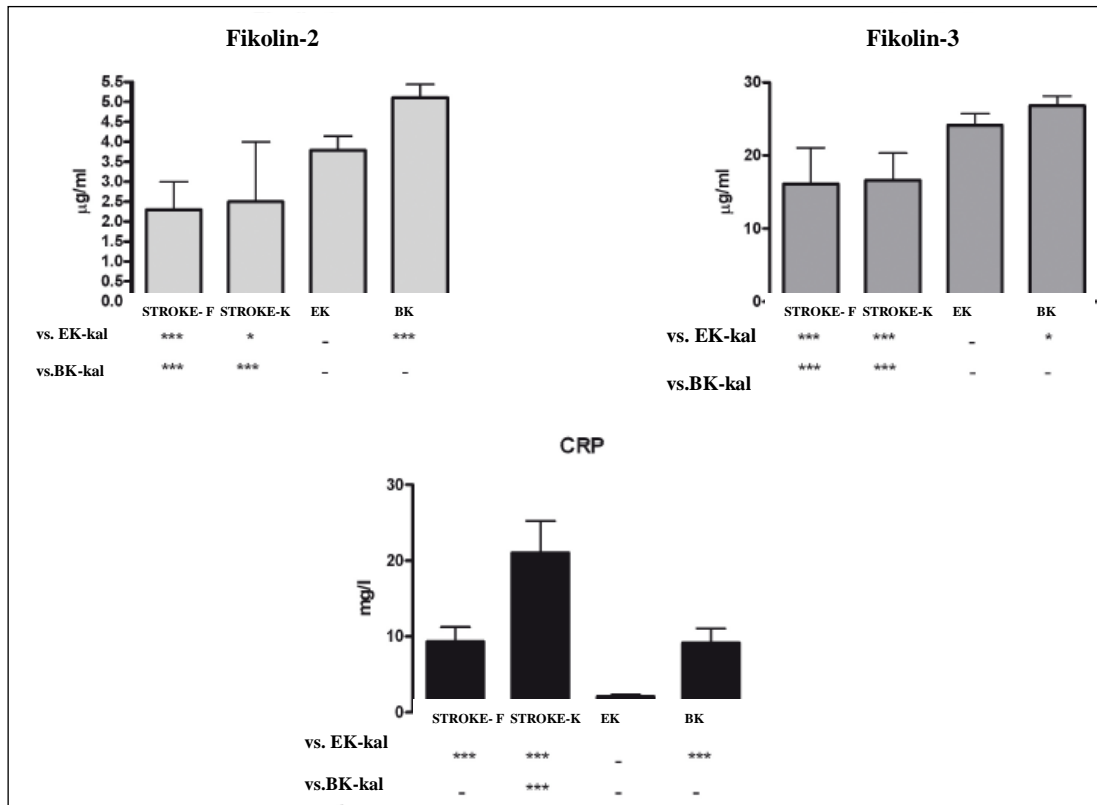
6.3. A komplement-rendszer lektin útjának aktiválódása akut ischaemiás stroke-ban a mannóz-kötő lektin (MBL) és fikolin molekulák különböző ligandokhoz történő kötése által

6.3.1. A lektin aktivációs út fehérjéinek koncentrációi szignifikánsan alacsonyabbnak; a CRP értékek szignifikánsan magasabbnak mutatkoztak ischaemiás stroke-ot elszenvedő betegek szérumában összehasonlítva az egészséges-, és beteg kontrollcsoportokkal

A fikolin-2, fikolin-3 és CRP szérum szinteket kórházi felvételnél (felvételnél minták) és 3-4 napot követően (követő minták) mértük 65 stroke beteg esetében. Hasonló módon jártunk el a 100 egészséges önkéntes – akik az egészséges kontrollcsoportot alkották –, és a 134 akut stroke-ot eddigiekben el nem szenvedő, súlyos carotis atherosclerosis állapotával jellemezhető páciens esetében, akik a beteg kontrollcsoportot alkották. 6. ábra

A fikolin-2 és fikolin-3 szintek stroke betegek kórházi felvételnél, illetve azt követő mintákban szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkoztak összehasonlítva az egészséges-, és a beteg kontrollcsoportok értékeivel.

Minden, a vizsgálatban szereplő beteg (akut ischaemiás stroke betegcsoport, súlyos carotis atherosclerotikus betegek kontrollcsoportja) felvételnél mintáit figyelembe véve, CRP szintjeik szignifikánsan magasabbak voltak az egészséges kontroll személyek felvételnél mintáihoz viszonyítva, de közel megegyeztek a mért értékek a beteg kontrollcsoport szérumaiban mértékekkel. Ezzel szemben a követő mintákban a CRP szintek szignifikánsan magasabb értékek voltak mindkét kontrollcsoportban mértékhez képest. Azon betegek, akiknél infekció lépett fel, nem képezték megfigyelésünk alanyait, a stroke betegek és a kontrollcsoportok között nem mutatkozott szignifikáns különbség. A kontrollcsoportok vonatkozásában mind a három változó tekintetében szignifikáns mértékben magasabb értékeket detektáltunk a beteg-kontrollcsoportban, mint az egészséges személyek esetében, bár a fikolin-3 szintekben tapasztalt különbségek kismértékűek voltak.



6. ábra. Fikolin-2, fiklonin-3 és CRP molekulák koncentrációi akut ischaemiában szenvedő betegek szérumaiban.

A kórházi felvételnélkor (STROKE-F) és azt követő 3. napon (STROKE-K) mért koncentrációik egészséges (EK) és beteg (BK) kontrollcsoportoz hasonlítva. A beteg kontrollcsoport alanyai 70%-os arteria carotis szűkülettel bírnak, akut stroke-ban nem szenvednek. p-értékek (* < 0.05, *** < 0.01) non-parametrikus Kruskal-Walls tesztel Dunn post hoc tesztet követően kalkuláltak.

6.3.2. A kórházi felvételt követően mért fikolin-3 szintek korreláltak a stroke súlyosságának indirekt méréseivel meghatározott eredményekkel és az agyi infarktus kiterjedésével

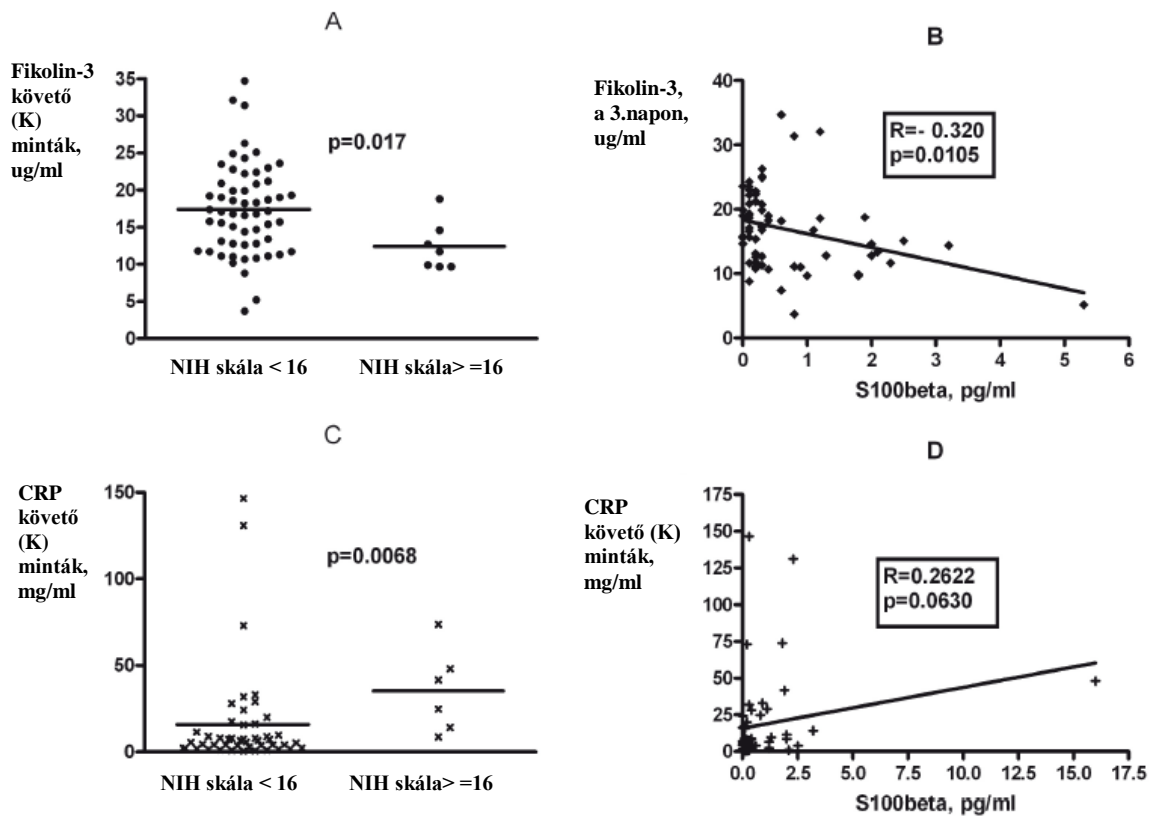
A felvétel után levett ún. követő mintákban mért fikolin-3 koncentrációk vonatkozásában szignifikáns negatív összefüggést mutattunk ki a stroke súlyosságának felvételkor elvégzett indirekt mérései által – mint például NIH skálával – meghatározott eredményekkel, azonban ez a megfigyelésünk a felvételi vérminták koncentrációi esetében nem álltak fenn. 7. (A) ábra

A betegcsoportot – hasonlóan Foerch módszerével (105) – két alcsoportra osztottuk: akiknél a NIH skála érték <16 és relatív kedvező prognózissal jellemezhetőek; illetve az NIH skála ≥ 16 értékkel bíró, kedvezőtlen prognózisú páciensek. Az alcsoportok fikolin-3 szintjeit összehasonlítva tapasztaltuk, hogy az előbbi alcsoport értékei szignifikánsan ($p = 0,017$) alacsonyabbak voltak, mint az utóbbi, kedvezőtlen prognózisú beteg alcsoportban mértek. Ezzel szemben nem találtunk szignifikáns különbséget ($p = 0,309$) a két alcsoport fikolin-2 szintjeit tekintve.

Szignifikáns negatív korreláció mutatkozott a fikolin-3 és az S100B-értékek vonatkozásában a követő mintákban, azonban a felvételnél levett szérumokban nem volt tapasztalható hasonló összefüggés. 7. (B) ábra

A fikolin-2 szintek nem korreláltak az S100B-koncentrációkkal.

A követő mintákból származó CRP értékek szignifikánsan magasabbnak bizonyultak a magas NIHSS pontokkal jellemezhető betegek szérumaiban, ahogyan ez 7. (C) ábra tükrözi; azonban 7. (D) ábra szerint nem találtunk szignifikáns összefüggést a S100B szintekkel.



7. ábra. Fikolin-3 értékek és a stroke kimenetele, súlyossága valamint az infarktus kiterjedése közötti összefüggések. Spearman korrelációs koefficiens és szignifikanciája jelölve.

(A) Fordított összefüggés a kórházi felvételt követő (K) mintákban detektált fikolin-3 szintek és a stroke NIH skálával felvételkor mért súlyossága között 65, akut stroke-ban szenvedő beteget vizsgálva. Kedvezőtlen (≥ 16) és kedvező (< 16) NIH értékek összehasonlításában. p-érték Mann-Whitney teszttel számolva.

(B) Negatív korreláció a kórházi felvételt követő 3. napon detektált fikolin-3 szintek és az agyi infarktus méretét jelző, követő mintákban mért S100B értékek között. A Spearman korrelációs koefficiens és szignifikanciája jelzettek.

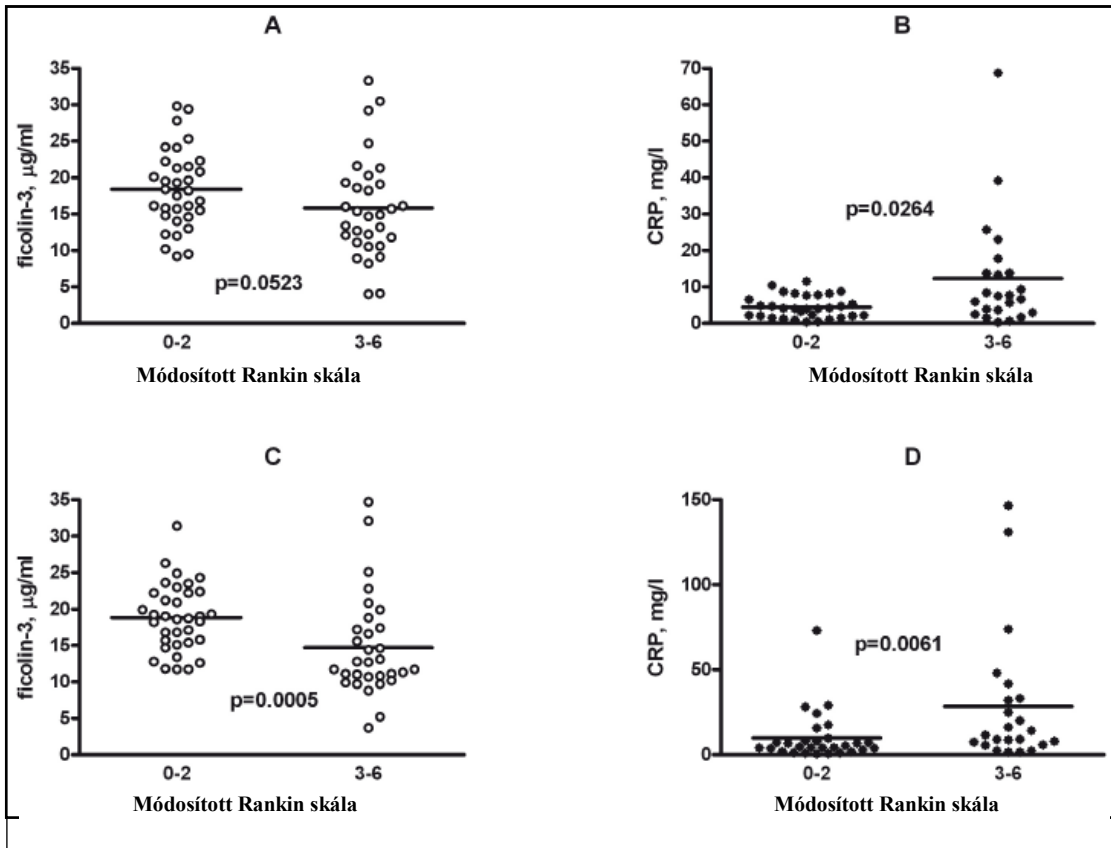
(C) Pozitív korreláció a követő mintákban detektált szérum CRP-értékek és az NIH skálával, felvételkor mért stroke súlyossága között 65 akut ischaemiás stroke-ban szenvedő beteget vizsgálva. Kedvezőtlen (≥ 16) és kedvező (< 16) NIH értékek összehasonlításában. p-érték Mann-Whitney teszttel számolva.

(D) Nincs szignifikáns korreláció a követő mintákból származó CRP-értékek és az agyi infarktus méretét jelző, követő mintákban mért S100B értékek között. A Spearman korrelációs koefficiens és szignifikanciája jelzettek.

6.3.3. A követő mintákban mért fikolin-3 és CRP szintek korrelálnak az akut ischaemiás stroke folyamatának kimenetelével

A fikolin molekulák és a CRP értékek összefüggésbe hozhatóak a betegség kimenetelével, amely utóbbit a módosított Rankin skálával határoztunk meg.

Amikor a betegcsoportot módosított Rankin skála alapján kettéosztottuk kedvezőtlen (3 – 6 pont) illetve kedvező (0 – 2 pont) alcsoportokra, a fikolin-3 szintek alacsonyabbak voltak az előző alcsoport vérmintáiban, megerősítvén az összefüggést a kórfolyamat kedvezőtlen prognózisával – azonban csak a követő mintákból származó értékek esetében tapasztaltunk szignifikáns különbséget, a felvételnél levett szérumokban mértek csak megközelítően mutattak jelentős eltérést /8. (A) és (B) ábra/. Amikor azon kilenc beteget, akiknél infekciós szövődmények léptek fel, kizártunk a vizsgálatainkból; mind a felvételnél, mind a követő mintákból származó CRP szintek szignifikánsan magasabbak voltak a kedvezőtlen prognózisú beteg alcsoportban a kedvező kimenetellel jellemezhető alcsoporthoz képest /8. (C) és (D) ábra/.



8. ábra. A szérumban mért ficolin-3 és a CRP értékek összefüggése a kimenetellel. Stroke kimenetelének súlyossága valamint az infarktus kiterjedése közötti összefüggések.

Kórházi felvételnél mért ficolin-3 (A,C) és CRP-szintek (B,D) közötti eltérések és követő mintákban detektált értékek (C,D) módosított Rankin skála alapján kedvező (1-2) és kedvezőtlen (3-6) kimenetellel jellemezhető betegeket összehasonlítva. Mann-Whitney teszt szignifikanciája jelzett.

Mindezen adatokat többszörös regressziós analízis elvégzésével támasztottuk alá. A kedvezőtlen (módosított Rankin skálán 3 – 6 pont) és kedvező (módosított Rankin skálán 0 – 2 pont) kimeneteli értékekre, mint függő változókra; míg a ficolin-3 szintekre, a CRP koncentrációkra, az életkorra és a nemre független változóként tekintettük. 9. táblázat

9. táblázat. Fikolin-3 és a CRP-értékek valamint az akut ischaemiás stroke kedvezőtlen (módosított Rankin skálán 3 – 6 pont) és kedvező (módosított Rankin skálán 1 – 2 pont) kimenetele között lévő összefüggés többszörös logisztikus regressziós analízissel

**Nemhez és korhoz igazított többszörös logisztikus regressziós analízis alkalmazott. Kilenc beteg infekció következtében az analízisből kizárásra került.

OR (95% CI) (p érték)**		
	Felvételi minták	Követő minták
fikolin 3, ug/ml	0,989 (0,776-1,020) (p=0,093)	0,736 (0,603-0,899) (p=0,003)
CRP, mg/L	1,226 (1,040-1,446) (p=0,015)	1,375 (1,095-1,727) (p=0,006)
Nem, nő/férfi	0,951 (0,238-3,794) (p=0,943)	0,969 (0,207-4,535) (p=0,968)
Életkor, évek	1,005 (0,925-1,092) (p=0,904)	0,981 (0,902-1,066) (p=0,652)

Azon kilenc beteg fikolin-3 és CRP szintjeit, akiket infekciós szövődmények miatt zártunk ki vizsgálatainkból, nem vettük figyelembe tanulmányunkban.

A követő vérmintákban detektált fikolin-3 és CRP értékek szignifikáns mértékben kapcsolódtak a betegség kimenetelével – a kedvezőtlen prognózisú al csoportban alacsonyabb fikolin-3 és magasabb CRP szinteket mértünk a kedvező prognózissal jellemezhető páciensek értékeihez képest. Hasonló, da csak marginálisan szignifikáns (fikolin-3) vagy enyhe mértékben jelentős (CRP) összefüggést találtunk a felvételtkori minták vizsgálata során.

A célból, hogy egyrészt az alacsony fikolin-3 és magas CRP értékek, másrészt a betegség kedvezőtlen kimenetele között lévő összefüggést alátámaszthassuk, megismételtük elemzésünket az eddig részletezettek szerint a követő szérumokból meghatározván a fikolin-3 és CRP alacsony/magas értékeket. A medián érték (16 ug/ml mind a felvételtkori, mind pedig a követő mintákra vonatkozóan) alatt vagy azzal azonos fikolin-3 szinteket alacsonynak, a medián érték felett lévöket magasnak vélelmeztük. A medián érték (7.7 mg/ml) felett mért CRP szinteket emelkedett értékeknek tekintettük.

10. táblázat.

10. táblázat. Fikolin-3 és a magas CRP-értékek valamint az akut ischaemiás stroke kimenetele közötti összefüggés

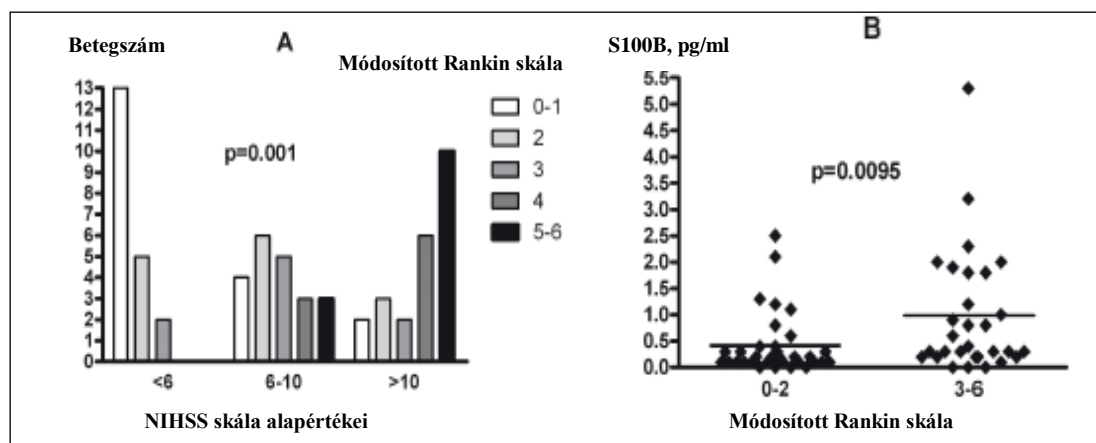
* Alacsony fikolin-3 szint: < 16 ug/ml (median), ** magas CRP értékek: >7,7 mg/L (median), *** kedvezőtlen (módosított Rankin skálán 3 – 6 pont) és kedvező (módosított Rankin skálán 0 – 2 pont) kimenetel. Nemhez és korhoz igazított többszörös logisztikus regressziós analízis alkalmazott. Kilenc beteg infekció következtében az analízisből kizárásra került.

	OR*** (95% CI)	p érték
Alacsony vs.magas fikolin 3*	5,628 (1,497-21,153)	0,044
Magas vs.alacsony CRP**	3,949 (1,036-15,055)	0,011
Nem, (nő/férfi)	1,171 (0,306-4,491)	0,818
Életkor, évek	1,041 (0,966-1,122)	0,294

Elemzésünkben a betegek neméhez és életkorához igazítván mind az alacsony fikolin-3 (OR 5.6), mind a magas CRP szintek (OR 3.9) szignifikánsan kedvezőtlen prognózist jósoltak.

6.3.4. Az NIH skála kiindulási pontértéke és a követő mintákban detektált szérums100B koncentrációk, valamint a betegség kimenetele között lévő negatív korreláció

Az NIH skála kiindulási pontértéke, mint a stroke súlyosságának indirekt mértéke és a követő mintákban mért S100B koncentráció, mint az infarktus kiterjedésének indikátora; valamint a kórkép módosított Rankin skálával kifejezett prognózisa között fennálló összefüggéseket értékeltük a 9. (A) és (B) ábra alapján. Mindkét paraméter (NIH skála pontértéke, S100B koncentráció) magas szignifikanciával korrelációt mutatott a betegség kimenetelét illetően: az NIH skálán magas kiindulási pontértékű betegek rosszabb prognózissal bírtak, mint az alacsony pontértékűek. A kedvezőtlen prognózisú betegek követő mintáiban mért szérums100B koncentrációi magasabb értékek mutattak a kedvező prognózisú páciensek értékeihez viszonyítva.



9. ábra. Az NIH skála alapértékei a kórházi felvételkor és az azt követő 3. napon detektált S100B koncentrációk összefüggése a betegség kimenetelével 65 akut stroke-ban szenvedő beteget vizsgálva.

A) A kórkép különböző kimenetelével jellemezhető betegek eloszlása alacsony (<6), közepes (6-10) és magas (>10) NIHSS alapértékkel jellemezhető betegekben. p-érték Khi-teszttel számolva.

B) A S100B koncentrációk különbségei kedvező (módosított Rankin skála pontérték:0-2) és kedvezőtlen kimenetelű (módosított Rankin skála pontérték:3-6) betegek között

7. MEGBESZÉLÉS

1. Az atherosclerosis egy összetett betegség, amelyről alkotott jelenlegi ismereteink alátámasztják azt a feltételezést, miszerint nem pusztán a lipoprotein-háztartás következménye (106). Általánosan elfogadott az az álláspont, miszerint a plakk kialakulásában inflammatorikus és immunológiai mechanizmusok is részt vesznek (107), amelyek az endotheliális dysfunctiót triggerelik (76). Az atheroma létrejöttének jelenlegi elgondolása alapján a lipoprotein háztartás és a vérerek gyulladása, egyéb rizikó faktorok mellett (mint például a dohányzás, különböző társbetegségek, etc.) összeadódnak ebben a többtényezős folyamatban. Az atherosclerosis immunológiai folyamatait tekintve az egyik lényeges tényező a komplement-rendszer. Kutatások szerint az atherosclerotikus plakk létrejöttében főszerepet tölt be a komplement-aktiváció (84). A komplement-rendszer defektusa megváltozott plakk-struktúrához vezethet (108), azonban az öröklődő C1-INH deficiencia atherosclerosis-ra gyakorolt hatását eddigiekben nem vizsgálták.

Az emelkedett BMI, ALT, csökkent vesefunkció emelkedett kreatinin-szint alapján, a magas LDL és az alacsony HDL – mindezen eltérések az atherosclerosis fő rizikófaktorai. Antropometrikus mérések és biokémiai adatok az atherosclerosis emelkedett kockázatát mutatták C1-INH szint-emelkedést eredményező danazol-kezelésben részesült C1-INH-HAE betegcsoportban. A legrissebb kutatások szerint sem hosszú távú danazol prophylaxisban, sem kezeletlen C1-INH-HAE betegekben nem tapasztaltak az egészséges kontroll-csoporthoz képest gyakoribb előfordulási rátával elsősorban a danazolra jellemző hematológiai mellékhatásokat, mint pl.: az erythrocytosis vagy a poliglobulia; illetve nem mutatkozott emelkedett thromboembóliás kockázati ráta plazma-derivált C1-INH koncentráttal kezelt C1-INH-HAE betegekben a kezelés hajlamosító tényezői ellenére (109, 110).

Feltételezhető a C1-INH deficiencia eseteleges védő szerepe a kezelt illetve kezeletlen C1-INH- HAE betegek esetében mind az atherosclerosis, mind egyéb hematológiai illetve vascularis kedvezőtlen folyamatok kialakulása vonatkozásában.

Irodalmi háttér

A C1-INH szerin proteázgátló a kallikrein-kinin rendszerben is szabályozó funkciót tölt be. Hiányában a rendszere aktiválódik, melynek során bradykinin szabadul fel. A bradykinin molekula endotheliális dysfunkciót és gyulladást eredményez, ez által részt vesz az atherosclerosis kialakulásában (76, 77). Azonban korábbi megállapítások szerint a bradykinin szerepet tölt be az atherogenesis elleni védelemben is a szöveti típusú plazminogén-aktivátor (t-PA) endotheliális felszabadulásának stimulációja által végbemenő endogén fibrinolysis modulációjával, amely aktivátor molekula védő funkciót fejt ki a keringési rendszerre az intravascularis fibrin létrejöttének és a thrombosis folyamatának gátlása által (111). Továbbá a bradykinin a coronaria erek endothelium-dependens vasodilatációját indukálja (111). A szakirodalom szerint az angiotenzin-konvertáz enzim (ACE) terápiás gátlásával megvalósuló anti-atherogenikus hatás legalábbis részben az emelkedett bradykinin-szinttel magyarázható, ugyanis az ACE a bradykinin degradáció egyik lényeges szereplője (111, 112).

Következtetésünk – miszerint C1-INH- HAE betegekben a számos kockázati tényező ellenére atherosclerosis elleni védelemről beszélhetünk – a C1-INH deficiencia eredményezte bradykinin szint emelkedésével és a kallikrein-kinin rendszer következetes aktivációjával magyarázható. Bár C1-INH- HAE betegek remissziója során a bradykinin kiindulási szintje alig magasabb a kontroll csoporthoz képest, kiterjedt bradykinin-felszabadulás figyelhető meg az akut oedemás epizódok alatt (73), amely periodikus felszabadulás hozzájárulhat az atherosclerosis elleni védelemhez. Mivel a komplement-rendszer aktivációja az atherosclerosis folyamatának lényegi meghatározója, valószínűsíthető, hogy a C1-INH elégtelen inhibítor hatása C1-INH HAE páciensekben hozzájárulhat a megváltozott plakk képződéshez.

2. Eredményeink alapján a komplement aktiváció az ischaemiás stroke nagyon korai szakaszában történik és összefüggésben áll a klinikai súlyossággal és a kedvezőtlen kimenetellel. A stroke-ot követő első 48 órában sorozatosan mérve öt komplement aktivációs terméket, kórházi felvételnél detektált komplement aktivációs végtermék, az SC5b-9 szintjének szignifikáns emelkedését tapasztaltuk súlyos carotis atherosclerosisban szenvedő betegek kontrollcsoportjához viszonyítva. Nem volt lehetséges kor szerint megfelelő összetételű kontrollcsoporttal dolgoznunk. Azonban a tapasztalt különbség a

vizsgált és a kontrollcsoport között a kor-, és nem eloszlás kiigazítását követően is szignifikáns maradt. Továbbá a C4d, C3a és C5a koncentrációk a kezdeti 24 órában szignifikáns mértékben növekedtek. Az SC5b-9 koncentrációk vonatkozásában is hasonló emelkedést találtunk, amennyiben a felvételtől legmagasabb értékeket mutató három beteget nem tekintjük. Mivel tanulmányunk elsődleges célja az volt, hogy akut ischaemiás stroke-ot követően nyomonkövessük a komplement-rendszer aktivációját, a kiindulási komplement szinteket összehasonlítottuk súlyos fokú carotis atherosclerotikus páciensek kontroll csoportjával. A kontrollcsoport atherosclerosis-hoz kapcsolódó komplement értékeik tekintetében közelebb álltak a vizsgált populációhoz, mint az egészséges alanyoktól származó mintákból detektált produktumok koncentrációi.

A stroke klinikai súlyossága a NIHSS neurológiai deficit pontrendszer és a módosított Rankin skála által mért szignifikáns pozitív korrelációt mutat a magas SC5b-9 szérumszinttel, míg a Barthel index alapján negatív összefüggést tapasztaltunk. A NIHSS és a Barthel index a funkcionális negatív tüneteket értékeli a megfigyelés időtartamának végén. Az emelkedett SC5b-9 szint a komplement aktiváció markereként a szolubilis MAC (membrane attack complex – C5b-9) erős formációját jelöli, mely számos patológiai folyamatban képződhet – mint pl.: növekedési faktorok, vérelemek aktiváló faktor mobilizációja – az ischaemiás szövet károsodását eredményezve (113).

Irodalmi háttér

Jelen megfigyeléseink a korábbi eredmények érdemi kibővítéséül szolgálhatnak. Egy korábbi publikációt követően (114) két csoportban sorozatos komplement méréseket végeztünk stroke-ot elszenvedett betegekben. Pedersen és munkatársai 11 ischaemiás stroke-ban szenvedő beteget követtek nyomon a kórházi felvételt követően 4. órától kezdődően 12 hónapig. Jelen eredményeinkhez hasonlóan az SC5b-9 emelkedését találták, valamint összefüggést vélelmeztek az infarktus térfogatát tükrözve a stroke terjedelme és súlyossága vonatkozásában (85). Azonban nem értékelték az SC5b-9 koncentrációk és a kimenetelre vonatkozó értékelések közötti összefüggéseket.

Korábbi tanulmány három komplement aktivációs termék (C3a, C5a és SC5b-9) értékeit detektálta az első naptól a 28. napig ischaemiás stroke-ot elszenvedő 15 páciens egymást

követő vérmintáiban (86). Stroke-ot követően a C5b-9 szintekben kiugrást tapasztaltak egészséges kontroll személyekhez képest – éles ellentétben Pedersen és munkatársai (85) és a mi eredményeinkkel – mialatt a C3a szintek korai emelkedést mutattak egyezően a mi tanulmányunkban tapasztaltakkal. E diszkrepanciára vonatkozóan nincs fellelhető magyarázat a szakirodalomban. A két komplement aktivációs termék eltérő dinamikája szolgálhatna magyarázatul, vagy Mocco és társai tanulmányában (86) beválogatott betegek vonatkozásában a súlyos stroke esetek hiánya, ellentétben a mi vizsgálatainkban lévő betegek többségével, akik közül a 26-ból 15 fő a stroke súlyosabb formájában szenvedett.

Ischaemiás stroke-ot követő szisztémás inflammatórikus válasz tekintetében egyre növekvő számú evidencia mutatkozik (115, 116, 117). A komplement-rendszer esszenciális és specifikus szerepet játszik a legtöbb patológiás gyulladási eseményben, amelyek rövidebb idővel az ischaemiás történést követően lépnek fel - ilyen események például a C3 molekula, melynek koncentrációja vasculáris történésekkor emelkedett (93), endotheliális sejtek interleukin-8 (IL-8) és monocita kemotaktikus protein-1 (MCP-1) expressziója, a polymorphonukleáris leukocyták aktivációja, az adhéziós molekulák fokozott expressziója, ún. up-regulációja (118). A magterületben a C3a és a C5a receptorok megnövekedett expressziója, valamint a C1q és C3 fragmentumok jelenléte által bizonyítást nyert a komplement aktiváció alapvető szerepe a mikrovaszkuláris károsodás folyamatában és az idegsejtek pusztulásában folytonos és átmeneti arteria cerebri media elzáródás kísérleti modelljei esetében (119, 120).

Korábbi állatkísérletek eredményei jelzik, hogy a komplement-rendszer aktivációja hozzájárul akut ischaemiás stroke-ot követően az agyi infarktus kiterjedésében. Számos tanulmány igazolta a komplement aktiváció alapvető szerepét a cerebrális ischaemiát követő agyi károsodás során. Rágcsálókön végzett kutatások szerint a genetikai komplement deficiencia vagy az in vivo komplement deplécio az infarktus méretében szignifikáns redukción eredményez (119).

A komplement fehérjék és receptorok megnövekedett expresszióját tapasztalták arteria cerebri media permanens elzáródása esetében (119, 121, 122, 123). Komplement deficiens illetve elégtelen állatokat vad típusúakhoz hasonlítva tapasztalták, hogy agyi ischaemiát követően a deficiens illetve szufficiens egyedek legalábbis részben védettek voltak átmeneti arteria cerebri media elzáródást követően (124, 125, 126, 127)

Állatkísérletek bizonyították, hogy a komplement inhibitoroknak – mint pl.: kobra venom faktor (CVF) (128, 129), plazma derivált C1-inhibitor (130, 131), rekombináns C1-inhibitor (132), intravénás immunglobulin alkalmazása (126) – hasznos neuroprotektív hatásuk van, valamint, hogy komplement-deficiens (C3-deficiens (125) vagy C5-deficiens (126)) egyedekben a cerebrális ischaemiának enyhébb kóreltani folyamatai zajlanak (9).

3. Eredményeink alapján a komplement aktiváció lektin útja elsődlegesen tehető felelőssé ischaemiás stroke-ban a komplement-rendszer aktiválódásáért. Megfigyeléseink alapján az alábbi megállapításokat tehetjük.

a) A lektin aktivációs út két iniciátor proteinjének (fikolin-2, fikolin-3) szérum koncentrációja csökken az ischaemiás stroke akut periódusa alatt.

b) A kórházi felvételt követően 3 – 4 nappal levett vérmintákban detektált fikolin-3 szintek inverz korrelációt mutatnak az akut ischaemiás stroke súlyosságával és kimenetelével.

c) Az alacsony fikolin-3 és a magas CRP szintek független hatással vannak a betegség prognózisára.

a) A fikolin-2 és fikolin-3 koncentrációk értékei szignifikánsan magasabbak egészséges egyének vérmintáiban, mint az akut ischaemiás stroke-ot elszenvedő betegek kórházi felvételtkor – a tünetek megjelenését követő egy órán belül – levett szérumában mért értékek. E fehérjék értékei nem változnak a stroke első 3 – 4 napja folyamán. A stroke betegek és az egészséges egyének között megfigyelt eltérések valószínűleg valósak, mivel az egészséges egyének szérumaiban mért fikolin-2 és fikolin-3 koncentrációk hasonlóak a korábban közölt értékekhez (133). Stroke betegek szérumában a fikolin-2 és fikolin-3 szintek szignifikáns mértékben alacsonyabbak voltak olyan súlyos fokú carotis atherosclerotikus betegek értékeihez viszonyítva, akik esetében nem történt klinikai esemény. A beteg kontrollcsoport fikolin koncentrációi magasabbak voltak az egészséges kontrollok vérmintáiban mért értékeknél. A fenti adatok összességében arra utalnak, hogy a stroke akut fázisában a fikolinok csökkent szintjei és a krónikus, súlyos atherosclerosis között nincs összefüggés.

b) Mivel a fikolinok csökkent koncentrációit az ischaemiás stroke nagyon korai szakaszában lehetett detektálni és a következő 3 – 4 nap folyamán az értékek nem változtak, ésszerűnek tűnik azon feltevés, amely szerint ez a csökkenés a cerebrális infarktus penumbrajában lévő apoptotikus és nekrotikus sejtekhez történő molekulakötések eredményezte konzumpciónak tulajdonítható (8). A fikolin-2 és fikolin-3 fehérjékről kimutatták korábban, hogy a haldokló sejtek szekvesztrációjában érintettek (134). Wang és munkatársai kimutatták, hogy a maternális fikolin-2 és fikolin-3 szérumszintek szignifikánsan ($p < 0.001$) alacsonyabb értékek preeclampsziával szövődött várandósság során, mint komplikáció nélküli terhességben a placentában zajló fehérje szekvesztráció következtében. Valamint kimutatták, hogy mindkét fehérje, de kiváltképp a fikolin-3 az ischaemiás placenta szövetéhez kapcsolódik.

A kórházi felvételt követően, ismételt levett ún. követő mintákban mért alacsonyabb fikolin-3 szint összefüggésben van a magasabb S100B szérumszintek által jelzett cerebrális infarktus kiterjedésének nagyobb mértékével. Az astrocytákból származó S100B koncentráció akut ischaemiás stroke-ban a celluláris károsodás súlyosságának és fokának mutatója (135). Az S100B fehérje vizsgálata elfogadott, mint az infarktus méretének megfelelő biomarkere (105, 113, 136, 137, 138). Ismereteink szerint az S100B koncentráció a stroke kezdetét követő 72 órában a legmagasabb (105). A fikolin-3 szintek az ischaemiás stroke súlyosságának indirekt meghatározásaival – jelen esetben az NIHSS neurológiai deficit pontszámokkal – inverz összefüggést mutatnak. Magasabb NIHSS pontok súlyosabb deficitet jelölnek (95)

Erős negatív korrelációt találtunk a fikolin-3 koncentráció és a betegség kimenetele között, amely utóbbit módosított Rankin skála alapján mértük. Ez az összefüggés azt jelzi, hogy az alacsony fikolin-3 szintek és a kedvezőtlen prognózis között kapcsolat van, amely kapcsolat legnagyobb valószínűség szerint másodlagos a fikolin-3 koncentráció és egyrészt az ischaemiás stroke súlyossága, másrészt az infarktus kiterjedésének mértéke között lévő, előbbieken részletezett összefüggésekhez képest. Jól ismert, hogy mind a magas NIHSS kiindulási pontérték, mind pedig a magas S100B koncentráció rossz prognózisra utal ischaemiás stroke esetén, amely összefüggéseket tanulmányunkban megállapítottunk.

A fikolin-2 molekulára vonatkozó klinikai ismeretek hiánya azon megfigyeléssel magyarázható, amely szerint a fikolin-3 molekula a legmagasabb koncentrációban a

legnagyobb mértékű komplement aktivációs kapacitással jellemezhető a komplement-rendszer lektin aktivációs útjának iniciátorai közül (32).

A fikolin-3 proteinek haldokló sejtekhez történő kötését követően a komplement-rendszer aktivációjának szelektív képessége tehető felelőssé e fehérjék szintjeivel jellemezhető szelektív klinikai összefüggésért. A fikolin-3 értékek és a komplement aktivációs termékek generációjának folyamatos méréseivel együttesen további kutatások szükségesek e feltevés megerősítéséhez.

Tanulmányaink eredményei alátámasztották azon korábbi kutatási adatokat (9, 10, 89), amelyek szerint a lektin komplement aktivációs út fontos szerepet tölt be az akut ischaemiás stroke patogenezisében. Vizsgálataink során kimutattuk, hogy a lektin út fikolin-3 függő aktivációja szintén hozzájárul a patológiás folyamatokhoz az MBL-függő aktiváció mellett.

c) Korábbi kutatási adatokkal (87, 88, 104, 114) összhangban a kórházi felvételnél mért magas CRP szinteket egészséges kontroll személyekkel összehasonlítva és a felvételt követő 3. napon levett magas CRP szérumszintek erős összefüggést mutattak az ischaemiás stroke kedvezőtlen kimenetelével, amely utóbbi megfigyelés egybehangzik Song és munkatársai korábbi eredményeivel (139). Következtetéseink szerint a kórházi felvételt követően levett mintákban mért alacsony fikolin-3 és magas CRP szintek klinikai összefüggései egymástól függetlenek, jelezvén, hogy a betegség patogenezisében két, különböző inflammatórikus folyamat zajlik. Ezen következtetéseknek fontos terápiás következménye lehet. Gyulladásgátló készítményeket korlátozott sikerrel már alkalmaztak ischaemiás stroke kezelésében. Mivel számos hatóanyagot, amely gátolhatja a patológiás komplement aktivációt, már alkalmaznak terápiás céllal (C1-inhibitor (140), eculizumab (141)) vagy klinikai vizsgálatok során (142), talán ezeket az ágenseket egyenként vagy kombinációban gyulladásgátló készítményekkel hatékonyabban lehetne alkalmazni ischaemiás stroke kezelésére. Mindezen feltevések további kutatások tárgyát képezhetik a továbbiakban.

Eredményeink alapján a lektin út elsődlegesen tehető felelőssé ischaemiás stroke-ban a komplement-rendszer aktiválódásáért.

Irodalmi háttér

Állításainkat alátámasztják azon korábbi humán -, és állatvizsgálatok, amelyek genetikailag meghatározott MBL-deficienciával rendelkező betegek esetében akut ischaemiás stroke kedvezőbb kimenetelét találták, valamint összefüggést tártak fel nagyszámú ischaemiás stroke-ot elszenvedő betegek esetében az MBL-deficiencia valamint az infarktus kisebb kiterjedése és jóval kedvezőbb kimenetele vonatkozásában. (10). A C4d és a C5b-9 komplement aktivációs termékek szignifikánsan magasabb mértékben voltak detektálhatóak vad típusú (A/A MBL genotípusú) páciensek eseteiben, akiknél a komplement-rendszer egyik aktivációs útja, a lektin út intakt volt; összehasonlítva MBL allél-variáns betegekkkel, akik lektin útja deficiens volt. Továbbá megerősíti állításainkat stroke-ot elszenvedő, kínai betegpopulációkon végzett kutatások eredményei, mely szerint a szérum MBL független, kiegészítő prognosztikus markere a rövid távú funkcionális kimenetelnek és mortalitási rátának akut ischaemiás stroke betegek esetében (148, 149). Sőt, az emelkedett szérum MBL-szint az akut ischaemiás stroke független rizikó faktora lehet (148).

Az egyik legfrissebb közlemény eredménye alapján valamennyi fikolin szint (fikolin-1,-2,-3) csökken az akut stroke-ot követő 6. órában. A fikolin-1 szintje azonban a 48. órában szignifikánsan magasabb értéket mutatott az akut stroke-betegekben. A fikolin-1 molekula összefüggésbe hozható a stroke-ot követő 3. hónapban a kedvezőtlen kimenetellel. (150) A fikolin-2 értékek nem csökkentek, míg a fikolin-3 szintek mind a 6., mind a 48. órában alacsonyabb értékeket mutattak. A kaukázusi populáción végzett kutatás során az MBL-szintekben nem találtak különbséget egészséges kontrollokhoz képest.

Jelenlegi ismereteink alapján tehát levonható a konzekvencia, mely szerint a komplement-rendszer lektin útjának (LP) mind MBL-, mind fikolinok által történő aktivációja felelős a patológiás komplement aktivációért akut ischaemiás stroke-ban. Azonban az MBL esetében a különböző populációra jellemző genotípus variánsok eltérő szerepet eredményezhetnek a patomechanizmusban.

Úgy tűnik, hogy a CRP-triggerelt komplement aktivációnak csekély szerepe volt az általunk megfigyelt folyamatokban, mivel a kórházi felvételt követően a CRP és a C5b-9 értékek között nem mutatkozott összefüggés.

Munkatársaimmal folytatott tanulmányaink során a komplement aktiváció és az emelkedett CRP szintek egymástól független kapcsolatát találtuk a klinikai súlyosság és az ischaemiás stroke különböző kimeneteli mutatói vonatkozásában, jelezvén a komplement aktiváció és a CRP molekulához kapcsolódó folyamatok additív hatását.

Irodalmi háttér

A komplement-rendszer aktivációja mellett számos inflammatórikus folyamat ismert az ischaemiás stroke patogenezisét tekintve (11), melyek közül a CRP molekulához kapcsolt folyamatokat vizsgálták eddigiekben a leggyakrabban. DiNapoli és munkatársai 2005-ben összegezték a bizonyítékokat a CRP molekula, mint a cerebrovasculáris történések független előrejelzője veszélyeztetett egyének vonatkozásában, továbbá, mint a stroke-ot követően prognózis szempontjából hasznos paraméter (12). Kimutatták, hogy ischaemiás stroke első előfordulását követően funkcionális negatív tüneteket mutató páciensek prognózisát jelzi előre (139) és összefüggést mutat az infarktus kiterjedésével (143). Ormstad és munkatársai bizonyítékot találtak arra vonatkozóan, hogy a CRP fontos szerepet játszik a cerebrális szöveti sérülés progressziójában (144).

Az SC5b-9 szintek nem korrelálnak az S100B koncentrációkkal, amelyek közül mindkettő az idegi sérülés jelei (145).

8. KÖVETKEZTETÉSEK

A tanulmány érdemi konklúziói az alábbiak:

6.1. Kutatásom alapján valószínűsíthető, hogy a C1-INH molekula szabályozási hibája egyensúlyozza a hosszú távú danazol alkalmazásnak tulajdonítható, kiterjedt lipid- és nem a lipid-anyagcsere defektussal összefüggő kockázati tényezőket az atherosclerosis kialakulása tekintetében. A következtetés abból adódik, hogy nem találtunk különbséget a C1-inhibitor hiányos (C1-INH-HAE) betegek danazolos és danazol kezelést nem kapott csoportjaiban sem egymáshoz, sem az egészséges kontrollokhoz képest az IMT értékek tekintetében, amely értékek normál tartományban voltak. A carotisok IMT mérése olyan metódus, amely az artériás érfalak többszörös rizikófaktorok által eredményezett átalakulásának átfogó képét detektálja. Tehát a komplement-rendszernek szerepe lehet az atherosclerosis patogenezisében szabályozó molekulája, a C1-INH szerin proteázgátló által.

6.2. Kutatásom eredményei a komplement-rendszer aktivációjának lényegi szerepét támasztják alá az agyi infarktusok kórélettani folyamatában.

A komplement aktivációs termékek mérése segíthet az akut ischaemiás stroke klinikai prognózisának meghatározásában. Felmerül ischaemiás stroke indikációjában a komplement modulációs terápia lehetséges haszna.

Kutatócsoportok korábbi eredményeivel (85, 86) összehangban jelenlegi eredményeinknek két lehetséges alkalmazási területe képzelhető el.

Az egyik: a komplement aktiváció kiterjedésének mérése azonnal a kórházi felvételt követően prognosztikai faktorként szolgálhat a már meglévő markerek mellett. Stroke-ot követően emelkedett CRP érték mérése szintén javasolt e célból, azonban még nincsenek megfelelő randomizált vizsgálati adatok (12) erre vonatkozóan. Hasonló a helyzet az SC5b-9 mérések esetében is.

A másik lehetőség az akut ischemias stroke kezelésére vonatkozik. Jelenlegi eredményeink más kutatócsoportokéval (85, 86) egybehangzóan jelzik, hogy az in vivo komplement aktivációt megakadályozó hatóanyagok hasznosak lehetnek az akut ischaemias stroke kezelésében, amely feltételezés a legnagyobb fontossággal bírhat, ugyanis eddigiekben nem létezik hatásos és speciális terápia az akut ischaemiás stroke

ischaemiás-reperfúziós sérülésének (I/R sérülés) enyhítésére. Számos készítményt – mint pl.: az intravénás gamma-globulin vagy a C1-észteráz inhibitor koncentrátum – már alkalmaznak a klinikai gyakorlatban, mint az in vivo komplement aktiváció down-regulációjára képes ágenseket, továbbá már elérhetőek újonnan kifejlesztett inhibitorok, mint például a monoklonális anti-C5 antitestek, amelyeket sikeresen alkalmaztak kiterjedt Aorta cross-clamping eljárással végzett coronaria bypass graft beavatkozás (146) valamint myocardialis infarktus (147) esetén.

6.3. Eredményeink alapján a komplement aktiváció fikolin-mediálta lektin útjai az ischaemiás stroke kórfolyamatában szerepet játszanak, és additív hatással lehetnek a nem komplement-függő inflammatórikus folyamatokra.

Munkatársaimmal folytatott kutatásaim során két, egymástól látszólag különböző, de csak részben azonosított neuroinflammatórikus út – a komplement-rendszer lektin útjának fikolin-3 függő aktivációja és a CRP-függő folyamatok – egymástól független módon szerepet töltenek be az akut ischaemiás stroke pathomechanizmusában és kedvezőtlen kimenetelében. Ezen következtetéseink hozzájárulhatnak az akut ischaemiás stroke új terápiás megközelítéséhez, amely kórkép kezelésére jelenleg meglehetősen szűk terápiás paletta áll rendelkezésünkre.

9. ÖSSZEFOGLALÁS

Az ischaemiás stroke lényegi, markáns prediktora az atherosclerosis. Az atherosclerotikus folyamatokban, következésképpen az akut ischaemiás stroke patomechanizmusában kétségtelenül szerepet játszanak inflammatorikus folyamatok. Következésképpen a komplement-rendszer elemeinek, mint a gyulladás molekuláris mediátorainak is nyomon követhetőnek kell lenniük a kórélettani történések során. A gyulladás intenzitásával és kiterjedtségével korrelál az akut agyi történés súlyossága és kimenetele, természetesen az érintett terület funkcionalitása függvényében.

Kutatómunkám során az alábbi feltevésekre kerestem a válaszokat:

1. A komplement-rendszernek szabályozó molekulája, a C1-INH által szerepe lehet az atherosclerosis patogenezisében?
2. A komplement aktiváció lényegi szerepet játszik az akut ischaemiás stroke-ot követő agyszöveti károsodásban/ kórélettani folyamatokban?
3. A komplement-rendszer lektin útjának aktiválódása a mannóz-kötő lektin (MBL) és fikolin molekulák különböző ligandokhoz történő kötése által szerepet játszik akut ischaemiás stroke-ot követő kórélettani folyamatokban?

Eredmények:

1. Az arteria carotisok intima-media rétegvastagságának (IMT) duplex sonographiával történő detektálása során valamennyi átlag IMT-érték normál tartományban volt. Nem találtunk szignifikáns különbséget IMT-értékek tekintetében a danazol-kezelt C1-INH-HAE-betegek vonatkozásában sem a kezeletlen C1-INH-HAE-páciensek, sem az egészséges kontrollcsoporthoz képest.

Antropometrikus mérések (BMI értékek) és biokémiai eredmények (ALT, CRP, kreatinin, koleszterin, LDL és HDL-szintek) az atherosclerosis emelkedett kockázatát mutatták C1-INH szint-emelkedést eredményező danazol-kezelésben részesült C1-INH-HAE betegcsoportban.

2. Az SC5b-9 szintje szignifikáns korrelációt mutatott a stroke súlyosságának fokával, a neurológiai deficit valamint a funkcionális korlátozottság mértékével.

3. A lektin aktivációs út két iniciátor proteinjének (fikolin-2, fikolin-3) szérumban koncentrációja csökken az ischaemiás stroke akut periódusa alatt.

A kórházi felvételt követően 3 – 4 nappal levett vérmintákban detektált fikolin-3 szintek inverz korrelációt mutatnak az akut ischaemiás stroke súlyosságával és kimenetelével.

Az alacsony fikolin-3 és a magas CRP szintek független hatással vannak az akut ischaemiás stroke betegség prognózisára.

Konklúzió

Kutatásom eredményei a komplement-rendszer aktivációjának lényegi szerepét támasztják alá az atherosclerosis kialakulásában, és – általa, mint fő kockázati tényező által – az agyi infarktusok kórélettani folyamatában.

A komplement-rendszerre az utóbbi időben, mint új terápiás lehetőségek egy célpontjára tekinthetünk ischaemiás stroke kezelését illetően.

A komplement aktivációs termékek mérése segíthet az akut ischaemiás stroke klinikai prognózisának meghatározásában.

Az elkövetkezendőkben a *komplement modulációs terápia* akut ischaemiás stroke kezelésében egy lehetséges alternatívaként merülhet fel.

10. SUMMARY

The most pronounced, essential predictor of ischemic stroke is the atherosclerosis. Undoubtedly, inflammatorical processes play an important role in atherosclerotic transformation, consequently in the pathomechanism of acute ischemic stroke. Therefore the elements of the complement system, as the molecular mediators of inflammation, must be followed up during the pathophysiological changes. The severity and outcome of the acute cerebral event is correlated with the intensity and extension of the inflammation depending on the functionality of the affected area.

During my research I was investigating the following hypothesis:

1. Could the complement system play an important role in the pathogenesis of atherosclerosis due to its regulatory molecule, the C1-INH?
2. Does the complement activation participate significantly in the cerebral impairment/pathophysiological processes followed by acute ischemic stroke?
3. Is the activation of the lectin pathway for complement cascade included in the pathophysiological processes due to the linking of mannose-binding lectin (MBL) and ficolin molecules to different ligands?

Results:

1. All of the average values were normal during the detection of the thickness of intima-media layer (IMT) in carotis arteries by duplex sonography. We have not found any significant difference regarding the IMT-values in HAE-patients treated with danazol, comparing the untreated C1-INH-HAE-patients to the healthy controls. The antropometric measures (BMI values) and biochemic results (ALT, CRP, creatinine, cholesterine, LDL- and HDL-values) show high risk of atherosclerosis in C1-INH-HAE population treated with danazol resulting elevated C1-INH levels.
2. The serum level of the molecule SC5b-9 showed significant correlation with the severity of ischaemic stroke, with the neurological deficiency, as well as with the functional disability.

3. The serum concentrations of two initiator proteins from lectin pathway decrease during the acute period of ischemic stroke.

Ficolin-3 levels detected in 3-4 days after admission show inverse correlation with the severity and outcome of acute ischemic stroke.

The low ficolin-3 and the high CRP-levels do not influence the prognosis of acute ischemic stroke.

Conclusions

The results of my research has proven the relevant role of the activation of the complement system in the patogenesis of atherosclerosis, as main risk factor of the patophysiological processes of cerebral infarcts.

Nowadays we can consider the complement system, as a new target of the therapeutic possibilities regarding the management of acute ischemic stroke.

The measurement of the complement activation elements could help determine the prognosis of the acute ischemic stroke.

In the near future the complement modulation therapy could emerge as one of the potential alternatives in the therapeutic management of acute ischemic stroke.

11. IRODALOMJEGYZÉK

1. Simon A, Gariépy J, Chironi G, et al. (2002) Intima-media thickness: a new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *J Hypertens*, 20:159–69.
2. Ter Avest E, Stalenhoef AF, de Graaf J. (2007) What is the role of noninvasive measurements of atherosclerosis in individual cardiovascular risk prediction? *Clin. Sci. (Lond)*, 112:507–16.
3. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, et al. (2000) Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol*, 151:478–87.
4. Graner M, Varpula M, Kahri J, et al. (2006) Association of carotid intima-media thickness with angiographic severity and extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 97:624–9.
5. Adams HP Jr., Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. (1993) Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*, 24(1):35–41.
6. Prabal Deb, Suash Sharma, K.M. Hassan. (2010) Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis. *Pathophysiology*, Vol. 17, Issue 3, p197–218.
7. Schlaug G, Benfield A, Baird AE, Siewert B, Lövblad KO, Parker RA, Edelman RR, Warach S. (1999) The ischemic penumbra: operationally defined by diffusion and perfusion MRI. *Neurology*, 22;53(7):1528-37.
8. Yanamadala V, Friedlander RM. (2010) Complement in neuroprotection and neurodegeneration. *Trends Mol Med*, 16:69-76.
9. Szeplaki G, Szegedi R, Hirschberg K, et al. (2009) Strong complement activation after acute ischemic stroke is associated with unfavorable outcomes. *Atherosclerosis*, 204:315-320.
10. Cervera A, Planas AM, Justicia C, et al. (2010) Genetically-defined deficiency of mannose-binding lectin is associated with protection after experimental stroke in mice and outcome in human stroke. *PLoS One*, 5:e 8433.
11. Ceulemans AG, Zgavc T, Kooijman R, Hachimi-Idrissi S, Sarre S, Michotte Y. (2010) The dual role of the neuroinflammatory response after ischemic stroke: modulatory effects of hypothermia. *J Neuroinflammation*, 7:74.
12. Di Napoli M, Schwaninger M, Cappelli R, et al. (2005) Evaluation of C-reactive protein measurement for assessing the risk and prognosis in ischemic stroke: a statement for health care professionals from the CRP Pooling Project members. *Stroke*, 36:1316-1329.
13. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. (2010) Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol.* (9):785-97.
14. Walport MJ. (2001) Complement- First of Two Parts. *N Engl J Med*, 344:1058-1066.
15. Murphy K, Travers P, Walport M. Janeway's Immunobiology. Seventh edition. 2008: 2:61-82.

16. Cebo C; Vergoten G; Zanetta JP. (2002) Lectin activities of cytokines: functions and putative carbohydrate-recognition domains. *Biochim Biophys Acta*, 1572:422-434.
17. Erdei A, Sármay G, Prechl J. *Immunológia. Medicina Könyvkiadó Zrt.* 2012:191-221.
18. Abul K. Abbas, Andrew H. H. Lichtman, Shiv Pillai. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System.* Elsevier Saunders. 2014: 1-92, 131-170.
19. Arlaud GJ, Reboul A, Sim RB, Colomb MG. (1979) Interaction of C1-inhibitor with the C1r and C1s subcomponents in human C1. *Biochim Biophys Acta Protein Struct*, 576: 151-162.
20. Sim RB, Malhotra R. (1994) Interactions of carbohydrates and lectins with complement. *Biochem Soc T*, 22: 106-111.
21. Major, B, Kardos J, Kékesi KA, Lőrincz Zs, Závodszy P, Gál P. (2010) Calcium-dependent conformational flexibility of a CUB domain controls activation of the complement serine protease C1r. *J. Biol. Chem.* 285: 11863-11869.
22. Sim RB, Tsiftoglou SA. (2004) Proteases of the complement system. *Biochem Soc T*, 32: 21-27.
23. Kirschfink M., Mollnes TE. (2003) Modern complement analysis. *Clin Diagn Lab Immunol*, 10: 982-989.
24. Xu Y, Narayana SV, Volanakis JE. (2001) Structural biology of the alternative pathway convertase. *Immunol Rev*, 180: 123-135.
25. Fujita T. (2002) Evolution of the lectin-complement pathway and its role in innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2:346-353.
26. Thiel S, Vorup-Jensen T, Stover CM, Schwaeble W, Laursen SB, Poulsen K, Willis AC, Eggleton P, Hansen S, Holmskov U, Reid KB, Jensenius JC. (1997) A second serine protease associated with mannan-binding lectin that activates complement. *Nat Immunol*, 386: 506-510.
27. Dahl MR, Thiel S, Matsushita M, Fujita T, Willis AC, Christensen T, Vorup-Jensen T, Jensenius JC. (2001) MASP-3 and its association with distinct complexes of the mannan-binding lectin complement activation pathway. *Immunity*, 15: 127-135.
28. Matsushita M; Kuraya M; Hamasaki N; Tsujimura M; Shiraki H; Fujita T. (2002) Activation of the lectin complement pathway by H-ficolin (Hakata antigen). *J Immunol.*, 168:3502-3506.
29. Paréj K, Hermann A, Donáth N, Závodszy P, Gál P, Dobó J. (2014) Dissociation and re-association studies on the interaction domains of mannan-binding lectin (MBL)-associated serine proteases, MASP-1 and MASP-2, provide evidence for heterodimer formation. *Mol Immunol.* 59(1):1-9.
30. Degn SE, Kjaer TR, Kidmose RT, Jensen L, Hansen AG, Tekin M, Jensenius JC, Andersen GR, Thiel S. (2014) Complement activation by ligand-driven juxtaposition of discrete pattern recognition complexes. *Proc Natl Acad Sci USA.* (37):13445-50.

31. Mayilyan KR, Presanis JS, Arnold JN, Hajela K, Sim RB. (2006) Heterogeneity of MBL-MASP complexes. *Mol Immunol*, 43: 1286-1292.
32. Hummelshoj T, Fog LM, Madsen HO, Sim RB, Garred P. (2008) Comparative study of the human ficolins reveals unique features of Ficolin-3 (Hakata antigen). *Mol Immunol*, 45: 1623-1632.
33. Hansen S, Selman L, Palaniyar N, Ziegler K, Brandt J, Kliem A, Jonasson M, Skjoedt MO, Nielsen O, Hartshorn K, Jorgensen TJ, Skjodt K, Holmskov U. (2010) Collectin 11 (CL-11, CL-K1) is a MASP-1/3-associated plasma collectin with microbial-binding activity. *J Immunol*, 185: 6096-6104.
34. Ma YJ, Skjoedt MO, Garred P. (2013) Collectin-11/MASP Complex Formation Triggers Activation of the Lectin Complement Pathway - The Fifth Lectin Pathway Initiation Complex. *J Innate Immun*
35. Keshi H, Sakamoto T, Kawai T, Ohtani K, Katoh T, Jang SJ, Motomura W, Yoshizaki T, Fukuda M, Koyama S, Fukuzawa J, Fukuoh A, Yoshida I, Suzuki Y, Wakamiya N. (2006) Identification and characterization of a novel human collectin CL-K1. *Microbiol Immunol*, 50: 1001-1013.
36. Turner MW. (1996) Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today*, 17: 532-540.
37. Dommett RM, Klein N, Turner MW. (2006) Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens*, 68: 193-209.
38. Thiel S; Bjerke T; Hansen D; Poulsen LK; Schiotz PO; Jensenius JC. Ontogeny of human mannan-binding protein, a lectin of the innate immune system. *Pediatr Allergy Immunol*.1995. 6:20-23.
39. Madsen HO, Garred P, Thiel T, Kurtzhals JA, Lamm LU, Ryder LP, Svejgaard A. (1995) Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol*, 155: 3013-3020.
40. Thiel S; Holmskov U; Hviid L; Laursen SB; Jensenius JC. (1992) The concentration of the C-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. *Clin.Exp Immunol.*, 90:31-35.
41. Super M, Thiel S, Lu J, Levinsky RJ, Turner MW. (1989) Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet*, 2: 1236-1239.
42. Dobó J, Schroeder V, Jenny L, Cervenak L, Závodszy P, Gál P. (2014) Multiple roles of complement MASP-1 at the interface of innate immune response and coagulation. *Mol Immunol*. 61(2):69-78.
43. Fraser DA, Bohlson SS, Jasinskiene N, Rawal N, Palmarini G, Ruiz S, Rochford R, Tenner AJ. (2006) C1q and MBL, components of the innate immune system, influence monocyte cytokine expression. *J Leukocyte Biol*, 80: 107-116.
44. Collard CD; Vakeva A; Morrissey MA; Agah A; Rollins SA; Reenstra WR; Buras JA; Meri S; Stahl GL. (2000) Complement Activation after Oxidative Stress: Role of the Lectin Complement Pathway. *Am J Pathol.*, 156:1549-1556.
45. Thiel S, Jensen L, Degn SE, Nielsen HJ, Gal P, Dobo J, Jensenius JC. (2012) Mannan-binding lectin (MBL)-associated serine protease-1 (MASP-1), a serine protease associated with humoral pattern-recognition molecules: normal and

- acute-phase levels in serum and stoichiometry of lectin pathway components. *Clin Exp Immunol*, 169: 38-48.
46. Heja D, Kocsis A, Dobo J, Szilagyi K, Szasz R, Zavodszky P, Pal G, Gal P. (2012) Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2. *P Natl Acad Sci USA*, 109: 10498-10503.
 47. Degn SE, Jensen L, Hansen AG, Duman D, Tekin M, Jensenius JC, Thiel S. (2012) Mannan-binding lectin-associated serine protease (MASP)-1 is crucial for lectin pathway activation in human serum, whereas neither MASP-1 nor MASP-3 is required for alternative pathway function. *J Immunol*, 189: 3957-3969.
 48. Matsushita M, Thiel S, Jensenius JC, Terai I, Fujita T. (2000) Proteolytic activities of two types of mannose-binding lectin-associated serine protease. *J Immunol*, 165: 2637-2642.
 49. Rossi V, Cseh S, Bally I, Thielens NM, Jensenius JC, Arlaud GJ. (2001) Substrate specificities of recombinant mannan-binding lectin-associated serine proteases-1 and -2. *J Biol Chem*, 276: 40880-40887.
 50. Ambrus G, Gal P, Kojima M, Szilagyi K, Balczer J, Antal J, Graf L, Laich A, Moffatt BE, Schwaeble W, Sim RB, Zavodszky P. (2003) Natural substrates and inhibitors of mannan-binding lectin-associated serine protease-1 and -2: a study on recombinant catalytic fragments. *J Immunol*, 170: 1374-1382.
 51. Harmat V, Gal P, Kardos J, Szilagyi K, Ambrus G, Vegh B, Naray-Szabo G, Zavodszky P. (2004) The structure of MBL-associated serine protease-2 reveals that identical substrate specificities of C1s and MASP-2 are realized through different sets of enzyme-substrate interactions. *J Mol Biol*, 342: 1533-1546.
 52. Stover CM, Lynch NJ, Hanson SJ, Windbichler M, Gregory SG, Schwaeble WJ. (2004) Organization of the MASP2 locus and its expression profile in mouse and rat. *Mamm Genome*, 15: 887-900.
 53. Skjoedt MO, Palarasah Y, Munthe-Fog L, Jie Ma Y, Weiss G, Skjodt K, Koch C, Garred P. (2010) MBL-associated serine protease-3 circulates in high serum concentrations predominantly in complex with Ficolin-3 and regulates Ficolin-3 mediated complement activation. *Immunobiology*, 215: 921-931.
 54. Garred P, Honore C, Ma YJ, et al. (2009) The genetics of ficolins. *J Innate Immun.*, 2:3-16.
 55. Teh C, Le Y, Lee SH, Lu J. (2000) M-ficolin is expressed on monocytes and is a lectin binding to N-acetyl-D-glucosamine and mediates monocyte adhesion and phagocytosis of Escherichia coli. *Immunology*, 101: 225-232.
 56. Liu Y, Endo Y, Iwaki D, Nakata M, Matsushita M, Wada I, Inoue K, Munakata M, Fujita T. (2005) Human M-ficolin is a secretory protein that activates the lectin complement pathway. *J Immunol*, 175: 3150-3156.
 57. Frederiksen PD, Thiel S, Larsen CB, Jensenius JC. (2005) M-ficolin, an innate immune defence molecule, binds patterns of acetyl groups and activates complement. *Scand J Immunol*, 62: 462-473.
 58. Honore C, Rorvig S, Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Madsen HO, Borregaard N, Garred P. (2008) The innate pattern recognition molecule Ficolin-1 is secreted by

- monocytes/macrophages and is circulating in human plasma. *Mol Immunol*, 45: 2782-2789.
59. Wittenborn T, Thiel S, Jensen L, Nielsen HJ, Jensenius JC. (2010) Characteristics and biological variations of M-ficolin, a pattern recognition molecule, in plasma. *J Innate Immun*, 2: 167-180.
 60. Honore C, Rorvig S, Hummelshoj T, Skjoedt MO, Borregaard N, Garred P. (2010) Tethering of Ficolin-1 to cell surfaces through recognition of sialic acid by the fibrinogen-like domain. *J Leukocyte Biol*, 88: 145-158.
 61. Kjaer TR, Hansen AG, Sorensen UB, Nielsen O, Thiel S, Jensenius JC. (2011) Investigations on the pattern recognition molecule M-ficolin: quantitative aspects of bacterial binding and leukocyte association. *J Leukocyte Biol*, 90: 425-437.
 62. Matsushita M, Endo Y, Taira S, Sato Y, Fujita T, Ichikawa N, Nakata M, Mizuochi T. (1996) A novel human serum lectin with collagen- and fibrinogen-like domains that functions as an opsonin. *J Biol Chem*, 271: 2448-2454.
 63. Aoyagi Y, Adderson EE, Rubens CE, Bohnsack JF, Min JG, Matsushita M, Fujita T, Okuwaki Y, Takahashi S. (2008) L-Ficolin/mannose-binding lectin-associated serine protease complexes bind to group B streptococci primarily through N-acetylneuraminic acid of capsular polysaccharide and activate the complement pathway. *Infect Immun*, 76: 179-188.
 64. Kilpatrick DC, McLintock LA, Allan EK, Copland M, Fujita T, Jordanides NE, Koch C, Matsushita M, Shiraki H, Stewart K, Tsujimura M, Turner ML, Franklin IM, Holyoake TL. (2003) No strong relationship between mannan binding lectin or plasma ficolins and chemotherapy-related infections. *Clin Exp Immunol*, 134: 279-284.
 65. Inaba S, Okochi K, Yae Y, Niklasson F, de Verder CH. (1990) Serological studies of an SLE-associated antigen-antibody system discovered as a precipitation reaction in agarose gel: the HAKATA antigen-antibody system. *Hukuoka Acta Medica*, 81: 284-291.
 66. Sugimoto R, Yae Y, Akaiwa M, Kitajima S, Shibata Y, Sato H, Hirata J, Okochi K, Izuhara K, Hamasaki N. (1998) Cloning and characterization of the Hakata antigen, a member of the ficolin/opsonin p35 lectin family. *J Biol Chem*, 273: 20721-20727.
 67. Akaiwa M, Yae Y, Sugimoto R, Suzuki SO, Iwaki T, Izuhara K, Hamasaki N. (1999) Hakata antigen, a new member of the ficolin/opsonin p35 family, is a novel human lectin secreted into bronchus/alveolus and bile. *J Histochem Cytochem*, 47: 777-786.
 68. Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Ma YJ, Hansen BE, Koch C, Madsen HO, Skjodt K, Garred P. (2008) Characterization of a polymorphism in the coding sequence of FCN3 resulting in a Ficolin-3 (Hakata antigen) deficiency state. *Mol Immunol*, 45: 2660-2666.
 69. Petersen SV, Thiel S, Jensen L, Vorup-Jensen T, Koch C, Jensenius JC. (2000) Control of the classical and the MBL pathway of complement activation. *Mol Immunol*, 37: 803-811.

70. Csuka D, Munthe-Fog L, Hein E, Zotter Z, Prohászka Z, Farkas H, Varga L, Garred P. (2014) Activation of the ficolin-lectin pathway during attacks of hereditary angioedema. *J. Allergy Clin. Immunol.* 134(6):1388-1393.
71. Cicardi M, Aberer W, Banerji A, Bas M, Bernstein JA, Bork K, Caballero T, Farkas H, Grumach A, Kaplan AP, Riedl MA, Triggiani M, Zanichelli A, Zuraw B; HAWK under the patronage of EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology). (2014) Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group. *Allergy*, 69(5):602-16.
72. Zundel S, Cseh S, Lacroix M, Dahl MR, Matsushita M, Andrieu JP, Schwaeble WJ, Jensenius JC, Fujita T, Arlaud GJ, Thielens NM. (2004) Characterization of recombinant mannan-binding lectin-associated serine protease (MASP)-3 suggests an activation mechanism different from that of MASP-1 and MASP-2. *J Immunol*, 172: 4342-4350.
73. Nussberger J, Cugno M, Amstutz C, et al. (1998) Plasma bradykinin in angioedema. *Lancet*, 351:1693–7.
74. Wagenaar-Bos IG, Hack CE. (2006) Structure and function of C1-inhibitor. *Immunol Allergy Clin*, 26: 615-632.
75. Agostoni A, Aygoren-Pursun E, Binkley KE, et al. (2004) Hereditary and acquired angioedema: problems and progress. Proceedings of the third C1 esterase inhibitor deficiency workshop and beyond. *J Allergy Clin. Immunol*, 114:S51–131.
76. Vapaatalo H, Mervaala E. (2001) Clinically important factors influencing endothelial function. *Med. Sci. Monit*, 7:1075–85.
77. Cruden NL, Newby DE. (2005) Clots, kinins and coronaries. *Atherosclerosis*, 183:189–98.
78. Frank MM. (2006) Hereditary angioedema: the clinical syndrome and its management in the United States. *Immunol Allergy Clin N Am*, 26:653–68.
79. Bowen T, Cicardi M, Farkas H, et al. (2004) Canadian 2003 international consensus algorithm for the diagnosis, therapy, and management of hereditary angioedema. *J Allergy Clin Immunol*, 114:629–37.
80. Pappalardo E, Zingale LC, Cicardi M. (2003) Increased expression of C1-inhibitor mRNA in patients with hereditary angioedema treated with Danazol. *Immunology letters*, 86(3):271-6.
81. Bowen T, Cicardi M, Bork K, Zuraw B, Frank M, Ritchie B, Farkas H, Varga L, Zingale LC, Binkley K. (2008) Hereditary angiodema: a current state-of-the-art review, VII: Canadian Hungarian 2007 International Consensus Algorithm for the Diagnosis, Therapy, and Management of Hereditary Angioedema. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 100: S30-40.
82. Bork K, Bygum A, Hardt J. (2008) Benefits and risks of danazol in hereditary angioedema: a long-term survey of 118 patients. *Ann Allergy Asthma Immunol.*, 100(2):153-61.

83. Szeplaki G, Varga L, Valentin S, Kleiber M, Karadi I, Romics L, et al. (2005) Adverse effects of danazol prophylaxis on the lipid profiles of patients with hereditary angioedema. *J Allergy Clin Immunol.*, 115(4):864-9.
84. Oksjoki R, Kovanen PT, Pentikainen MO. (2003) Role of complement activation in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 14:477–82.
85. Pedersen ED, Waje-Andreassen U, Vedeler CA, Aamodt G, Mollnes TE. (2004) Systemic complement activation following human acute ischaemic stroke. *Clin Exp Immunol*, 137:117-122.
86. Mocco J, Wilson DA, Komotar RJ, et al. (2006) Alterations in plasma complement levels after human ischemic stroke. *Neurosurgery*, 59:28-33.
87. Elkind MS, Tai W, Coates K, Paik MC, Sacco RL. (2006) High-sensitivity C-reactive protein, lipoprotein-associated phospholipase A2, and outcome after ischemic stroke. *Arch. Intern. Med*, 166:2073–80.
88. Youssef MY, Mojiminiyi OA, Abdella NA. (2007) Plasma concentrations of C-reactive protein and total homocysteine in relation to the severity and risk factors for cerebrovascular disease. *Transl Res*, 150:158–63.
89. Osthoff M, Katan M, Fluri F, et al. (2011) Mannose-binding lectin deficiency is associated with smaller infarction size and favorable outcome in ischemic stroke patients. *PLoS One*, 6:e 21338.
90. Orsini F, Parrella S, Villa P, et al. (2011) Mannose binding lectin as a target for cerebral ischemic injury. *Molecular Immunology*, 48:1677.
91. Brooks R. (1996) EuroQol: the current state of play. *Health Policy*, 37:53–72.
92. Howard G, Burke GL, Evans GW, et al. (1994) Relations of intimal-medial thickness among sites within the carotid artery as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Atherosclerosis Risk in Communities*. *Stroke*, 25:1581–7.
93. Szeplaki G, Prohaszka Z, Duba J, et al. (2004) Association of high serum concentration of the third component of complement (C3) with preexisting severe coronary artery disease and new vascular events in women. *Atherosclerosis*, 177:383–9
94. Adams H, Adams R, Del Zoppo G, Goldstein LB. (2005) Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: 2005 guidelines update a scientific statement from the Stroke Council of the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 36:916–23.
95. Brott T, Adams Jr HP, Olinger CP, et al. (1989) Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. *Stroke*, 20:864–870.
96. Mahoney FI, Barthel DW. (1965) Functional evaluation: the Barthel index. *Md State. Med J*, 14:61–5.
97. Bonita R, Beaglehole R. (1988) Recovery of motor function after stroke. *Stroke*, 19:1497–1500.
98. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 16:1215.

99. Garred PJS, Quist L, Taaning E, Madsen HO. (2003) Association of mannosebinding lectin polymorphisms with sepsis and fatal outcome, in patients with systemic inflammatory response syndrome. *J Infect Dis*, 188:1394–403.
100. Nagy G, Brozik M, Varga L, et al. (2000) Usefulness of detection of complement activation products in evaluating SLE activity. *Lupus*, 9:19–25.
101. Adams RJ, Albers G, Alberts MJ, et al. (2008) Update to the AHA/ASA recommendations for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack. *Stroke*, 39:1647-1652.
102. Cohen J, Brun-Buisson C, Torres A, Jorgensen J. (2004) Diagnosis of infection in sepsis: an evidence-based review. *Critical care medicine*, 32: S466-494.
103. Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Hansen BE, et al. (2007) The impact of FCN2 polymorphisms and haplotypes on the Ficolin-2 serum levels. *Scand.J.Immunol*, 65:383-392.
104. Molnar T, Papp V, Banati M, et al. (2010) Relationship between C-reactive protein and early activation of leukocytes indicated by leukocyte antisedimentation rate (LAR) in patients with acute cerebrovascular events. *Clin Hemorheol Microcirc*, 44:183-192.
105. Foerch C, Singer OC, Neumann-Haefelin T, et al. (2005) Evaluation of serum S100B as a surrogate marker for long-term outcome and infarct volume in acute middle cerebral artery infarction. *Arch Neurol*, 62:1130–4.
106. Ridker PM, Genest J, Libby P. Risk factors for atherosclerotic disease. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, editors. *Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine*. WB Saunders, Philadelphia, 2001: 1010–40.
107. Ross R. (1999) Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J*, 138: S419–20.
108. Buono C, Come CE, Witztum JL, et al. (2002) Influence of C3 deficiency on atherosclerosis. *Circulation*, 105:3025–31.
109. Kóhalmi KV, Veszeli N, Zotter Z, Csuka D, Benedek S, Imreh É, Varga L, Farkas H. (2016) The effect of long-term danazol treatment on haematological parameters in hereditary angioedema. *Orphanet J Rare Dis*. 25;11:18.
110. Farkas H, Kóhalmi KV, Veszeli N, Zotter Z, Várnai K, Varga L. (2016) Risk of thromboembolism in patients with hereditary angioedema treated with plasma-derived C1-inhibitor. *Allergy Asthma Proc*. (2):164-70.
111. Curzen NP, Fox KM. (1997) Do ACE inhibitors modulate atherosclerosis? *Eur. Heart J*, 18:1530–5.
112. Zuraw BL. (2006) Novel therapies for hereditary angioedema. *Immunol. Allergy Clin N Am*, 26:691–708.
113. Bossi F, Fischetti F, Pellis V, et al. (2004) Platelet-activating factor and kinin-dependent vascular leakage as a novel functional activity of the soluble terminal complement complex. *J Immunol*, 173: 6921–7.
114. Di Napoli M. (2001) Systemic complement activation in ischemic stroke. *Stroke*, 32:1443–8.
115. Danton GH, Dietrich WD. (2003) Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke. *J. Neuropathol Exp Neurol*, 62:127–36.

116. Smith CJ, Emsley HC, Gavin CM, et al. (2004) Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome. *BMC Neurol*, 4:2.
117. Christensen H, Boysen G. (2004) ;C-reactive protein and white blood cell count increases in the first 24 h after acute stroke. *Cerebrovasc Dis*, 18:214–9.
118. D'Ambrosio AL, Pinsky DJ, Connolly ES. (2001) The role of the complement cascade in ischemia/reperfusion injury: implications for neuroprotection. *Mol. Med*, 7:367–82.
119. Van Beek J, Bernaudin M, Petit E, et al. (2000) Expression of receptors for complement anaphylatoxins C3a and C5a following permanent focal cerebral ischemia in the mouse. *Exp Neurol*, 161:373–82.
120. Pedersen ED, Aass HC, Rootwelt T, et al. (2007) CD59 efficiently protects human NT2-N neurons against complement-mediated damage. *Scand J Immunol*, 66:345–51.
121. Nishino H, Czurko A, Fukuda A, et al. (1994) Pathophysiological process after transient ischemia of the middle cerebral artery in the rat. *Brain Res Bull*, 35:51-56.
122. Huang J, Kim LJ, Mealey R, et al. (1999) Neuronal protection in stroke by an sLex-glycosylated complement inhibitory protein. *Science*, 285:595-599.
123. Pedersen ED, Froyland E, Kvissel AK, et al. (2007) Expression of complement regulators and receptors on human NT2-N neurons—effect of hypoxia and reoxygenation. *Mol Immunol*, 44:2459-2468.
124. Mocco J, Mack WJ, Ducruet AF, et al. (2006) Complement component C3 mediates inflammatory injury following focal cerebral ischemia. *Circ Res*, 99:209-217.
125. Atkinson C, Zhu H, Qiao F, et al. (2006) Complement-dependent P-selectin expression and injury following ischemic stroke. *J Immunol*, 177:7266-7274.
126. Arumugam TV, Tang SC, Lathia JD, et al. (2007) Intravenous immunoglobulin (IVIG) protects the brain against experimental stroke by preventing complement-mediated neuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104:14104-14109.
127. Harhausen D, Khojasteh U, Stahel PF, et al. (2010) Membrane attack complex inhibitor CD59a protects against focal cerebral ischemia in mice. *J. Neuroinflammation*, 7:15.
128. Vasthare US, Barone FC, Sarau HM, et al. (1998) Complement depletion improves neurological function in cerebral ischemia. *Brain Res Bull*; 45:413–9.
129. Figueroa E, Gordon LE, Feldhoff PW, Lassiter HA. (2005) The administration of cobra venom factor reduces post-ischemic cerebral injury in adult and neonatal rats. *Neurosci Lett*, 380:48–53.
130. Akita N, Nakase H, Kaido T, Kanemoto Y, Sakaki T. (2003) Protective effect of C1 esterase inhibitor on reperfusion injury in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Neurosurgery*, 52:395–400.

131. De Simoni MG, Storini C, Barba M, et al. (2009) Neuroprotection by complement (C1) inhibitor in mouse transient brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23:232–9.
132. Gesuete R, Storini C, Fantin A, et al: Recombinant C1 inhibitor in brain ischemic injury. *Ann Neurol*, 66:332-342.
133. Sallenbach S, Thiel S, Aebi C, et al. (2011) Serum concentrations of lectin pathway components in healthy neonates, children and adults: mannanbinding lectin (MBL), M-, L-, and H-ficolin, and MBL-associated serine protease-2 (MASP-2). *Pediatr Allergy Immunol*, 22 (4):424-30.
134. Jensen ML, Honore C, Hummelshoj T, Hansen BE, Madsen HO, Garred P. (2007) Ficolin-2 recognizes DNA and participates in the clearance of dying host cells. *Mol Immunol*, 44:856-865.
135. Beer C, Blacker D, Bynevelt M, Hankey GJ, Puddey IB. (2010) Systemic markers of inflammation are independently associated with S100B concentration: results of an observational study in subjects with acute ischaemic stroke. *J Neuroinflammation*, 7:71.
136. Herrmann M, Vos P, Wunderlich MT, de Bruijn CH, Lamers KJ. (2000) Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. *Stroke*, 31:2670-2677.
137. Jauch EC, Lindsell C, Broderick J, Fagan SC, Tilley BC, Levine SR. (2006) Association of serial biochemical markers with acute ischemic stroke: the National Institute of Neurological Disorders and Stroke recombinant tissue plasminogen activator Stroke Study. *Stroke*, 37:2508-2513.
138. Laskowitz DT, Kasner SE, Saver J, Remmel KS, Jauch EC. (2009) Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: the Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) study. *Stroke*, 40:77-85.
139. Song IU, Kim YD, Kim JS, Lee KS, Chung SW. (2010) Can high-sensitivity C-reactive protein and plasma homocysteine levels independently predict the prognosis of patients with functional disability after first-ever ischemic stroke? *Eur Neurol*, 64:304-310
140. Cicardi M, Zanichelli A. (2010) Replacement therapy with C1 esterase inhibitors for hereditary angioedema. *Drugs Today (Barc)*, 46:867-874.
141. Schrezenmeier H, Hochsmann B. (2010) Eculizumab opens a new era of treatment for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Expert Rev Hematol* 2009, 2:7-16.
142. Emlen W, Li W, Kirschfink M. (2010) Therapeutic complement inhibition: new developments. *Semin Thromb Hemost*, 36:660-668.
143. Youn CS, Choi SP, Kim SH, et al. (2010) Serum highly selective C-reactive protein concentration is associated with the volume of ischemic tissue in acute ischemic stroke. *The American journal of emergency medicine*, 30 (1):124-8.
144. Ormstad H, Aass HC, Lund-Sorensen N, Amthor KF, Sandvik L. (2011) Serum levels of cytokines and C-reactive protein in acute ischemic stroke patients, and

- their relationship to stroke lateralization, type, and infarct volume. *Journal of Neurology*, 258:677-685.
145. Korfiatis S, Stranjalis G, Papadimitriou A, et al. (2006) Serum S-100B protein as a biochemical marker of brain injury: a review of current concepts. *CurrMed Chem*, 13:3719–31.
 146. Pepys MB, Hirschfield GM, Tennent GA, et al. (2006) Targeting C-reactive protein for the treatment of cardiovascular disease. *Nature*, 440:1217–21.
 147. Mahaffey KW, Van de Werf F, Shernan SK, et al. (2006) Effect of pexelizumab on mortality in patients with acute myocardial infarction or undergoing coronary artery bypass surgery: a systematic overview. *Am Heart J*, 152:291–6.
 148. Wang ZY, Sun ZR, Zhang LM. (2014) The relationship between serum mannose-binding lectin levels and acute ischemic stroke risk. *Neurochem Res*.39(2):248-53.
 149. Zhang ZG, Wang C, Wang J, Zhang Z, Yang YL, Gao L, Zhang XY, Chang T, Gao GD, Li LH. (2015) Prognostic value of mannose-binding lectin: 90-day outcome in patients with acute ischemic stroke. *Mol Neurobiol*. 51(1):230-9.
 150. Zangari R, Zanier ER, Torgano G, Bersano A, Beretta S, Beghi E, Casolla B, Checcarelli N, Lanfranconi S, Maino A, Mandelli C, Micieli G, Orzi F, Picetti E, Silvestrini M, Stocchetti N, Zecca B, Garred P, De Simoni MG; LEPAS group. (2016) Early ficolin-1 is a sensitive prognostic marker for functional outcome in ischemic stroke. *J Neuroinflammation*. 20;13:16.

12. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Szegedi R, Széplaki G, Varga L, Prohászka Z, Széplaki Z, Karádi I, Füst G, Farkas H. Long-term danazol prophylaxis does not lead to increased carotid intima-media thickness in hereditary angioedema patients. *Atherosclerosis*. 2008 May;198(1):184-91.
IF: 4.601 (2009)

Szeplaki G, Szegedi R, Hirschberg K, et al: Strong complement activation after acute ischemic stroke is associated with unfavorable outcomes. *Atherosclerosis* 2009, 204:315-320.
IF: 4.522 (2009)

Füst G, Munthe-Fog L, Illes Z, Széplaki G, Molnar T, Pusch G, Hirschberg K, Szegedi R, Széplaki Z, Prohászka Z, Skjoedt MO, Garred P. Low ficolin-3 levels in early follow-up serum samples are associated with the severity and unfavorable outcome of acute ischemic stroke. *J Neuroinflammation*. 2011 Dec 29;8:185.
IF: 3.827 (2011)

Az értekezéshez kapcsolódó publikációkra vonatkozó összesített impakt faktor: **12,95**

Egyéb közlemények

-

Összesített impakt faktor: **12,95**

13. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani Konzulenseimnek, Prof. Dr. Prohászka Zoltánnak és Prof. Dr. Farkas Henriette-nek segítő és támogató iránymutatásukért és a számtalan, építő jellegű konzultációért.

Tisztelettel és köszönettel adózom Dr. Füst György Professor Úrnak lelkesítő ösztönzéséért, akinek legnagyobb sajnálatomra személyesen már nincs lehetőségem köszönetet mondani.

Köszönöm szépen, hogy együtt dolgozhattam kutatásunk során Dr. Széplaki Gábor kollégámmal és a Semmelweis Egyetem III. sz. Belgyógyászati Klinika Kutatólaborjának Munkatársaival.

Hálámat szeretném kifejezni Dr. Karádi István Professor Úrnak, hogy a Semmelweis Egyetem Kútvölgyi Klinikai Tömbjének Igazgatójaként támogatta munkámat.

Külön köszönet illeti meg a vizsgálatokban részvevő Betegeket, akik nélkül kutatásom nem jöhetett volna létre.

Őszinte hálával tartozom a Kútvölgyi Klinikai Tömb Dolgozóinak, különös tekintettel neurológus Kollégáimnak, aneszteziológus-intenzív terapeuta, belgyógyász Kollégáknak szakmai és emberi támogatásukért, akik nélkül a disszertációm nem jöhetett volna létre. Ezúton is szeretnék Nektek köszönetet mondani.

Végül, de nem utolsó sorban szeretetteljes köszönettel tartozom Családomnak – Édesapámnak, id. Szegedi Róbertnek, példaképemnek, akinek sajnos már nem tudom szóban örökérvényű hálámat kifejezni.

Feleségemnek, Mártának: örök szereteted, kitartásod, támogatásod nélkül már nem írhatnám ezeket a sorokat!