

**AZ AKUT ISZKÉMIÁS KORONÁRIA SZINDRÓMA KIALAKULÁSÁT
VALAMINT A TROMBOCITA AGGREGÁCIÓ GÁTLÓ GYÓGYSZEREK
HATÉKONYSÁGÁT BEFOLYÁSOLÓ GENETIKAI TÉNYEZŐK**

Ph.D. értekezés

DR. PAPP ELŐD

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

I. sz. Belgyógyászati Klinika

Programvezető: Prof. Dr. Tóth Kálmán

Pécs

2005.

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés	6
2. Háttér és irodalmi áttekintés	8
2.1.1. Aterogenezis	8
2.1.2. Trombogenezis	10
2.2. Akut iszkémiás koronária szindróma (AICS)	11
2.2.1. A nekrozis folyamata és az iszkémia reverzibilitása	12
2.3. Az acetilszalicilsav (ASA)	14
2.3.1. Az ASA hatásmechanizmusa	14
2.3.2. Az ASA farmakokinetikája	17
2.3.3. Az ASA terápiás dózisa	17
2.3.4. Az ASA kezelés időtartama	17
2.3.5. ASA rezisztencia	18
2.4. Clopidogrel	20
2.4.1. Farmakokinetikai tulajdonságok	24
2.4.2. Clopidogrel rezisztencia	25
2.5. Génmutációk	27
2.5.1. Angiotenzin konvertáló enzim (ACE) inzerció/deléción (I/D) polimorfizmus	27
2.5.2. Metilén tetrahidrofolát reduktáz (MTHFR) polimorfizmus	28
2.5.3. Glikoprotein (GP) IIIa trombocita receptor P1A (A1/A2) polimorfizmus	29
2.5.4. Limfotoxin alfa (LTA) génmutációk	30
3. Célkitűzések	32
4. Vizsgálataink	34
4.1. AICS-án átesett betegek és egészséges önkéntes kontroll populáció genetikai vizsgálata	35
4.1.1. Betegek	35
4.1.2. Módszerek	36
4.1.2.1. MTHFR C677T mutációanalízis	36
4.1.2.2. A P1A trombocita receptor A1/A2 polimorfizmus	37
4.1.2.3. ACE I/D polimorfizmus	38

4.1.2.4. LTA génmutációk	40
4.1.2.5. Statisztika	42
4.1.3. Eredmények	43
4.2. A PLA polimorfizmus és az acetilszalícilsav rezisztencia közötti összefüggés vizsgálata	46
4.2.1. Betegek	46
4.2.2. Módszerek	47
4.2.2.1. Trombocita aggregáció gátlás vizsgálata	47
4.2.2.2. A PLA trombocita receptor A1/A2 polimorfizmus	48
4.2.2.3. Statisztika	48
4.2.3. Eredmények	49
4.3. Clopidogrel kezelés hatásossága feltételezett genetikai háttérének vizsgálata	52
4.3.1. Betegek	52
4.3.2. Módszerek	52
4.3.2.1. A PLA trombocita receptor A1/A2 polimorfizmus	52
4.3.2.2. Trombocita aggregáció gátlás vizsgálata	52
4.3.2.3. Statisztika	52
4.3.3. Eredmények	53
5. Összefoglalás	55
6. Az értekezésből levonható megállapítások és azok gyakorlati jelentősége	61
7. Köszönetnyilvánítás	62
8. Irodalom	63
9. Saját tudományos közlemények	84

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACE	angiotenzin konvertáló enzim
ADP	adenozin difoszfát
AICS	akut iszkémiás koronária szindróma
ASA	acetilszalicilsav
AT-III	antitrombin III
CABG	koronária bypass műtét (coronary artery bypass grafting)
cAMP	ciklikus adenzin monofoszfát
CI	konfidencia intervallum
COX	ciklooxigenáz
EDHF	endotél eredetű hiperpolarizáló faktor (endothel derived hyperpolarizing factor)
EDRF	endotél eredetű relaxáló faktor (endothel derived relaxing factor)
GP	glikoprotein
LDH	laktát dehidrogenáz
LTA	limfotoxin alfa
MTHFR	metilén tetrahidrofolát reduktáz
NO	nitrogén oxid
PAD	perifériás artériás betegség (peripheral arterial disease)
PAI	plazminogén aktivátor inhibitor
PCR	polimeráz láncreakció (polymerase chain reaction)

PIA	trombocita specifikus antigén
PPP	trombocita szegény plazma (platelet poor plasma)
PRP	trombocita dús plazma (platelet rich plasma)
PTCA	perkután transzluminális koronária angioplasztika
rpm	fordulatszám (rate per minute)
RRR	relatív rizikócsökkenés (relative risk reduction)
tct	trombocita
TNF	tumor nekrózis faktor
t-PA	szöveti (tissue) plazminogén aktivátor
Tx	tromboxán
vWF	von Willebrand faktor

1. BEVEZETÉS

A kardiovaszkuláris betegségek diagnózisának, kezelésének és megelőzésének kérdései továbbra is az orvostudomány érdeklődésének középpontjában állnak, s a szomorú hazai mortalitási statisztikáért napjainkban is elsősorban a kardiovaszkuláris betegségek a felelősek. Kardiovaszkuláris okok miatt a betegek 29 %-a, megközelítőleg tizenhat millió ember halt meg világszerte 2001-ben. Amennyiben az eddigi kedvezőtlen tendencia folytatódik, 2020-ra az arányt 37 %-ra prognosztizálják. Az akut iszkémiás koronária szindróma (AICS) kialakulásának hátterében a klasszikus kardiovaszkuláris rizikófaktorok mellett felmerült genetikai mutációk szerepe is. A genetikai tényezők fontosságára utal a betegség családi halmozódása és a fiatal korban megjelenő AICS is.

Az elmúlt évtizedekben a koronária szívbetegség szekunder prevenciójában az acetilszalicilsav, a statinok, az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gátlók és a béta receptor blokkolók mortalitást csökkentő hatását nagy betegszámú, randomizált tanulmányok bizonyították. Az egyre hatékonyabb, agresszívebb kezelés ellenére a kardiovaszkuláris mortalitás fokozódott, ezen folyamat csökkentésére újabb primer és szekunder prevenciók stratégiák szükségesek. Az újabb vizsgálatok a trombocita aggregáció gátlók közül a clopidogrelről bizonyították, hogy ST elevációval nem járó AICS kezelésében, illetve stent implantációt követően csökkenti a mortalitást és morbiditást. Ugyanakkor számos tanulmány számolt be elégtelen trombocita aggregáció gátlásról, aspirin illetve clopidogrel rezisztenciáról, melynek okai között a nem megfelelő beteg-compliance, gyógyszerkölcsonhatások mellett egyes genetikai mutációkat is valószínűsítettek.

Munkám során részben az AICS kialakulásában feltételezetten szerepet játszó, részben az AICS kezelés során észlelt aspirin és clopidogrel rezisztencia hátterében álló genetikai mutációkat kívántam vizsgálni.

2. HÁTTÉR ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Az iparilag fejlett országokban az összhalálozás 45 %-a kardiovaszkuláris halálozás, melynek fő oka az érpálya különböző szakaszainak aterotrombotikus elváltozása (WHO 1996; WHO 1997). Az aterotrombózis globális, az egész érrendszert érintő elváltozás. A koronáriabetegek több mint felében perifériás érbetegség vagy cerebrovaszkuláris betegség is kimutatható; a perifériás érbetegek és a cerebrovaszkuláris betegek csoportjában pedig a másik két lokalizáció érintettsége a betegek 1/3-ára jellemző.

2.1.1. Aterogenezis

Az ateroszklerózis az intima krónikus gyulladásos betegsége. Az aterogenezis kialakulása nem morfológiai, hanem funkcionális változásokkal kezdődik: az addig normálisan működő endotél zavart működésűvé válik. Az endotélszervet azonos sejtek építik fel, össztömegét átlagosan 1,5 kg-ra, kiterített felületét 150-1000 m²-re becsülik (Káli és mtsai, 1999). E nagy tömegű szervnek jól definiálható funkciója van, elválasztva pl. a keringő vért az intima kötőszövetétől és a media simaizomzatától a barrier funkciót végzi, illetve szenzoros funkciót lát el. Ez azt jelenti, hogy az endotélsejtek képesek külső ingereket érzékelni és azokra reagálni, pl. az érfal feszülése vasoaktív anyagok termelését indítja el, a laktát dehidrogenáz (LDH) és oxidált LDH pedig növekedési faktorok termelését indukálja az endotélsejtben. Az endotélium tehát transzducer sejtekből áll, melyek az érzékelés és válaszadás révén befolyásolják az erek működését. A válaszadás mediátor anyagok útján realizálódik, melyeket autokrin-parakrin anyagoknak hívnak. Az anyagok egy-egy csoportja az érrendszer tónusát

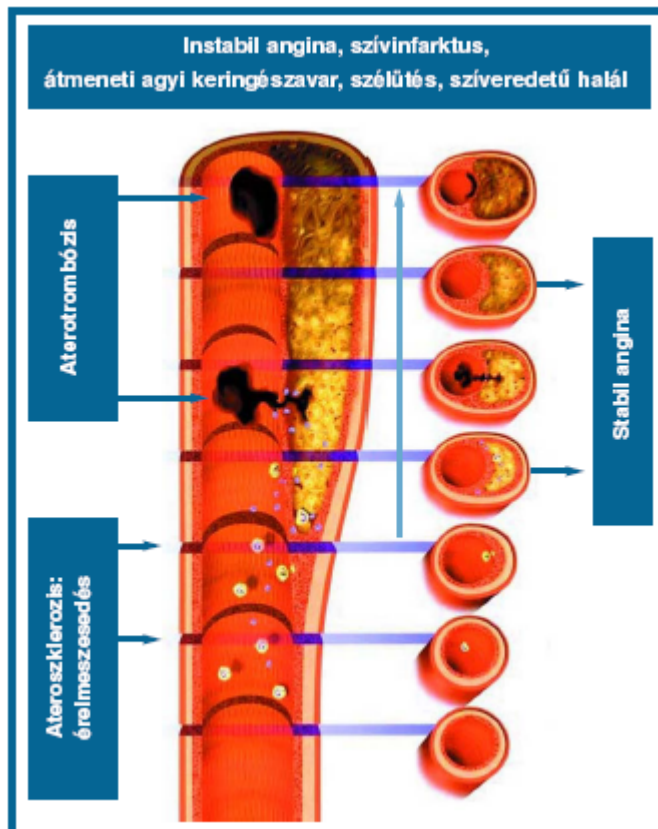
(EDRF - endothel derived relaxing factor, NO, endotelin, angiotenzin), a trombusképződést (prosztaciklin, AT-III, t-PA, PAI), míg mások az immunválaszokban szereplő funkciót (interleukin csoport), vagy egyéb funkciókat (növekedési faktorok, adhezív proteinek, kolónia stimuláló faktor stb.) biztosítják.

Az autokrin-parakrin anyagok fő képviselői az EDRF, az EDHF (endothel drived hyperpolarizing factor), az endotelin és az angiotenzin.

Endotél diszfunkció során mindez megváltozik: csökken az NO- és nő az endotelinprodukción (Káli és mtsai., 1997; Káli és mtsai., 1999). Vazokonstrikció, sejtproliferáció, a permeabilitás kóros növekedése alakul ki. Az endotélsejtek adhezív proteinek szekretálnak, melyek alakos elemek kitapadását segítik elő. A lamináris áramlás helyett turbulenciák keletkeznek.

Az aterogenezis második állomása már morfológiai, strukturális változásokkal jár – e fázist „**vaszkuláris remodelling**”-nek, az érrendszer átépülésének hívják (Gibbons és mtsai., 1994). Ennek során az érfalban koleszterint tartalmazó lerakódások, ateroszklerotikus plakkok jönnek létre.

A szimpatikus aktivitás növekedése (vérnyomás-, szívfrekvencia-növekedés, nagyobb véráramlás) elősegíti a plakkruptúrát. A plakkruptúra, ill. erózió elindítója egy új eseménysorozatnak, melyet **trombogenezisnek** hívunk (1. ábra).



1. ábra. Az ateroszklerózis folyamatának sematikus ábrája

2.1.2. Trombogenezis

A plakkruptúra helyén, a sérült endotéliumnak megfelelően a keringő vér közvetlen kapcsolatba kerül szubintimális szövetekkel, a szubintimális kollagénnel. Mindez először a trombociták funkcióváltozásához vezet, melynek a trombociták adhéziója, aktivációja, majd a vérlemezék aggregációja lesz a következménye (Ofner, 1999; Cimminiello és mtsai., 1999). Az adhézió a von Willebrand faktor (vWF) segítségével jön létre úgy, hogy e fehérje összeköti a szubintimális kollagént a trombociták egyik felszíni adhezív proteinjével, melyet glikoprotein (GP) Ib receptornak nevezünk (Fuster és mtsai., 1986; Fuster és mtsai., 1978; Fuster és mtsai., 1982). A trombociták működésváltozásának második fázisa a vérlemezék aktivációja.

A transzmembrán kalciumcsatornákon keresztül a sejt belsejébe jutó Ca^{++} ionok a vérlemezkék alfa és denz granulumainak expresszióját okozzák és ez nagyszámú új adhezív protein (GP IIb/IIIa receptor) felszíni megjelenését eredményezi (Nurden, 1995).

A GP IIb/IIIa receptorok a vWF-ral, valamint a fibrinogénnel képesek összekapcsolódni. Egyetlen fibrinogénmolekula karjaival két trombocitát köt össze, számos fibrinogénmolekula pedig hálószerűen köti össze a vérlemezkéket és nagy konglomerátumokat, trombocita dugókat (platelet plugs) hoznak létre (Kiss, 1999).

2.2. Akut iszkémiás koronária szindróma

A folyamat lényegét a szívizom oxigénigénye és az oxigénkínálat közötti egyensúly-eltolódás képezi. Az esetek többségében az iszkémia elsődleges oka a koszorúér keringés elégtelensége, míg más esetben az oxigén igény növekedése. A koszorúér keringés zavarát idézheti elő a koronáriák jelentős szűkülete, vagy olyan állapot, amikor a nem jelentős szűkülethez az instabil plakk ruptúrája és/vagy trombus képződés társul. Az instabil, ruptúrára hajlamos plakk az esetek több mint felében a ruptúra bekövetkezte előtt nem okoz szignifikáns sztenózist a koszorúérben.

Az instabil plakk kórtani jellemzői: kiterjedt, lágy, koleszterindús lipidmag; a simaizomelemek viszonylag alacsony száma; a vékonyabb, sérülékeny "sapka"; a zajló lokális gyulladás, mely a monocita-makrofág elemek, neutrofil granulociták, T-limfociták és masztociták fokozott infiltrációjával jár. A fehérvérsejtek behatolását az adhéziós molekulák expressziója segíti.

A plakkdirupció különféle megjelenési formái: aktív, passzív ruptúra és a plakkerózió. A plakkerózió esetében a plakk nem ürül ki, és belsejében nem találunk

trombus, szemben az előző két formával. Az, hogy a plakk mennyire sérülékeny, részben a körkörös falfeszüléstől, részben a plakk lipidtartalmának nagyságától, összetételétől és elhelyezkedésétől függ. Különösen nőknél, hipertóniásoknál és cukorbetegéknél gyakori a plakkerózió. Erodált plakk esetén a trombus a plakk felszínéhez tapad, míg plakkruptúra során a trombus a mélyebben fekvő lipidmaggal érintkezik. A plakk fibrotikus bevonatát kollagéntartalmú szövet alkotja. Ezt a tokot az apoptózis, a makrofáginfiltráció, a T-limfocitákból származó citokinek és a simaizomsejtekből származó metalloproteázok gyengítik. Ha a vér érintkezésbe kerül a plakk belsejében lévő rendkívül trombogén lipidmaggal, annak felületén trombocitadús trombus formálódik. A vérrög által okozott áramlászavar lesz az, amelynek klinikai következményei szerint instabil angina vagy miokardiális infarktus következik be. Hogy a kialakuló trombus mennyire lesz okkluzív és permanens, azt a protrombotikus-antitrombotikus folyamatok egyensúlya szabja meg. A részben vagy teljesen okkluzív trombus - sajátos periodicitást mutatva - összezsugorodik, gömb alakot vesz fel, majd a koronária disztális részébe embolizál. Ilyenkor a beteg panaszai megszűnnek, mindaddig, amíg újabb áramlászavart okozó trombus nem képződik. Jórészt ez a ciklikus áramlásredukció áll az instabil anginás beteg nyugalmi, visszatérő, nitroglicerinnel alig reagáló anginái hátterében. Az embolizációt és így indirekt módon a plakkruptúrát a biokémiai markerek (troponin T vagy I) megjelenésével tudjuk regisztrálni.

2.2.1. A nekrosis folyamata és az iszkémia reverzibilitása

Miokardium-nekrozishoz két mechanizmus vezethet:

1. A plakkruptúrán növekvő és embolizáló trombus darabjai a koronáriák kis arterioláit tömnek el, és így fokális mikronekrozisok képződnek akkor is, ha a

plakkruptúrán kialakult trombus lényeges áramlászavart nem okozott. A jelenséget a troponin pozitivitással detektálni tudjuk, ami bizonyítja, hogy valóban zajló miokardiális mikronekrózissal ("minimal myocardial damage") állunk szemben.

2. A rupturált plakk felszínén növvő trombus a vér áramlását átmenetileg vagy tartósan elzárja. Ilyenkor, ha nincsenek megfelelő kollaterálisok, mintegy 20 percen túli okklúzió esetén elkezdődik a szívizomsejtek elhalása. Egy epikardiális nagy koronáriaág okklúziója esetén az érhez tartozó ellátási területen az endokardium felől az epikardium felé keskenyedő ék alakú területen indul meg a nekrosis. A szubendokardiális miokardiumréteg a legsérülékenyebb, mert - noha oxigénfelhasználása relatíve a legnagyobb - vérellátása anatómiai okokból relatíve rosszabb. A nekrosis zónáját mechanikus funkcióját ugyan elvesztő, de irreverzibilisen nem károsodott sejtek veszik körül („stunned myocardium”). A 4-6 órán túli elzáródás esetén az elzárt artéria által ellátott területen kialakul a nekrosis, ettől kezdve a reverzibilitás esélye csekély. A teljes okklúzió esetén rendelkezésre álló időablak 4, maximum 6 órát enged meg a hatékony rekanalizációs beavatkozások számára. Fontos tudni, hogy a reperfüzió során megmentett miokardium jelentős részének mechanikus funkciója csak napok, hetek múlva tér vissza („stunned myocardium”).

Az AICS kezelésében használt gyógyszercsoportokat és eljárásokat öt kategóriára oszthatjuk: antiiszkémiás szerek, antitrombin szerek, trombocita-aggregációt gátló szerek, lipidcsökkentő kezelés, revaszkularizáció – rekanalizáció. A trombocita-aggregáció gátlás alapgyógyszere az acetilszalicilsav (Bertrand és mtsai., 2002; Keltai és mtsai., 2004).

2.3. Az acetilszalícilsav (ASA)

Több mint 100 éve, 1899-ben regisztrálták először az acidum acetylsalicylicumot Aspirin néven mint fájdalom-, lázcsillapító és gyulladáscsökkentő gyógyszert (Mann és mtsai., 1991).

Hemosztázist gátló hatása csak 1945 után derült ki, miután megfigyelték, hogy a fájdalomcsillapításra adott aspirin hemorrágiás szövődményeket okozhat (Singer, 1945; Smith és mtsa.; 1951, Wising, 1952). 1967-ben Weis és Aledort ismerte fel először a szalicilsav trombocitafunkciót gátló hatását, majd O'Brien javasolta elsőként terápiás alkalmazását aterotrombotikus szerként (O'Brien, 1968).

Vane (1971) a prosztaglandin-szintézist gátló hatását, Smith és Willis (1971) pedig a trombocitában zajló prosztaglandin-szintézis gátlását írták le ASA hatására, tisztázva az antitrombocita effektus részleteit.

Kiderült, hogy az ASA a trombociták egyik sejtmembránhoz kötött enzimét - a ciklooxygenázt - gátolja, annak specifikus és potens inhibitora (Schrör, 1992).

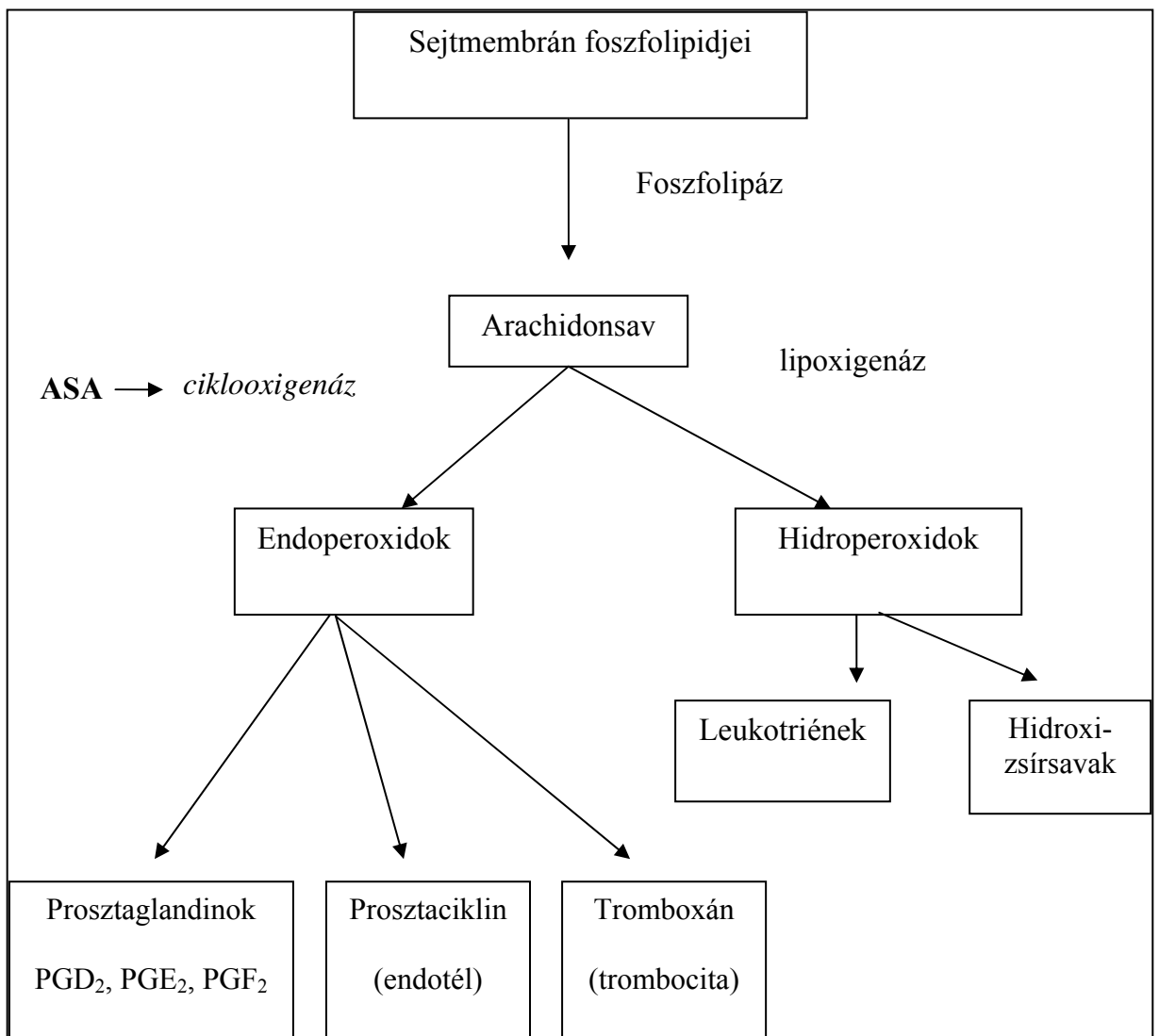
A klinikai sikerek - kisebb randomizált, placebo kontrollált vizsgálatok révén - már a 70-es években megjelentek (Elwood és mtsai., 1974), az első nagy átütő bizonyítékot a szívinfarktussal kapcsolatban az ISIS-2 vizsgálat hozta 1988-ban (ISIS-2 Collaborative Group, 1988). Az elmúlt 10 évben már az aterotrombózis valamennyi formájában igazolták az ASA terápia hatékonyságát.

2.3.1. Az ASA hatásmechanizmusa

A trombociták illetve endotélsejtek sejtmembrán foszfolipidjeiből a foszfolipáz enzim hatására arachidonsav keletkezik. Az arachidonsav a ciklooxygenáz enzim révén

endoperoxidokra bomlik, míg a lipoxigenáz enzim révén hidroperoxidokra. Az endoperoxidokból prosztaglandin, endoteliális prosztaciklin valamint a vérlemezkében tromboxán keletkezik, míg a hidroperoxidok a hidroxizsírsavak és a leukotriének forrása. Az ASA a ciklooxygenázt bénítja, a lipoxigenázt nem (Schrör, 1992).

A leírtak vázlatát a 2. ábra foglalja magába.



2. ábra. Az acetilszalicilsav hatásmechanizmusának sematikus ábrája

Az ASA a trombocitákban irreverzibilisen acetilálja a ciklooxygenáz enzimet, kötődve annak terminális hidroxil csoportjához (Roth és mtsa., 1978; Smith és mtsai., 1991); az ilyen trombocita tromboxánképzése gátolt. A tromboxán (TxA₂) vazokonstriktor, trombocita-aggregációt okozó molekula, hiszen számos trombocitamediátor (szerotonin, adenzin difoszfát, trombocita faktor 4) felszabadulását okozza. A TxA₂ instabil anyag, mindössze 30 másodpercig mutatható ki a plazmában, stabil formája a TxB₂ (Robertson és mtsai., 1981).

Az endotélium sejtmembrán foszfolipidjeiből - a trombocitában zajló bioszintézishez hasonló reakciók révén - arachidonsav, majd a ciklooxygenáz enzim segítségével endoperoxidok, végül prosztaciklin képződik. A prosztaciklin antiaggregációs és vazodilatátor anyag, gátolja a tromboxán hatását. Az ASA kevésbé gátolja az endotélsejt ciklooxygenáz enzimét, mint a trombocitáét (Burch és mtsai., 1978). Ennél lényegesebb, hogy a sejtmaggal nem rendelkező trombociták fehérjeszintézisre - és így új ciklooxygenáz enzim képzésre is - képtelenek lesznek, míg az endotélsejtek e képességüket megőrzik. A hatás az endotélsejteken reverzibilis, a trombocitákban irreverzibilis. Az ASA-val kezelt trombocita egész életére - mintegy 10 napig - nem képes TxA₂ képzésre, csupán a csontvelőből származó új trombociták funkcionálhatnak.

Aspirin bevétele után a hatás gyors, a szalicilsav hidrolízisétől függő; a bélben oldódó készítmények esetében lassúbb, kb. 3-4 óra után jelentkezik a trombocita-aggregációt gátló hatás maximuma (szétrágva 15-30 perc után) (Jimirez és mtsai., 1989).

Az ASA a ciklooxygenáz molekula 529-es pozícióján lévő szerin aminósavat irreverzibilisen acetilálja és permanens inaktivációját okozza.

2.3.2. Az ASA farmakokinetikája

Az ASA abszorpciója gyors és teljes (abszorpciós félléletideje 5-16 perc). Függ a gyomor pH-értékétől; magasabb pH értéknél a felszívódás romlik (Dotewall és mtsa., 1976). A felszívódás helye kisebb részben a gyomor, nagyobb részben a proximális vékonybélszakasz (Rowland és mtsai., 1972), mindazonáltal a telt gyomor nem befolyásolja érdemben az ASA biológiai hasznosulását (Ferner és mtsai, 1990).

2.3.3. Az ASA terápiás dózisa

Patrono (1989) vizsgálata szerint a TxA_2 szintézis 50 %-os gátlását 26 mg egyszer adott szalicilsavval lehet elérni egészséges egyéneknél, míg 5 napig adott 3,2 mg ismételt dózis hasonló eredményre vezet. Patrono szerint a TxA_2 szintézis komplett gátlásához (tehát 50 %-nál nagyobb gátláshoz) napi 40 mg ASA szükséges.

Számos vizsgálat igazolja, hogy napi 0,5-1 mg/testsúlykg (azaz 30-70 mg) ASA egy héten belül a tromboxán szintézist teljesen gátolja, miközben nem csökkenti szignifikánsan az endotél prosztaciklin termelését (Patrignani és mtsai, 1982; Vanags és mtsai, 1990; Chiabrandó és mtsai, 1992).

2.3.4. Az ASA kezelés időtartama

Jelenleg nincsenek különböző időtartamú szalicil kezelést összehasonlító, randomizált vizsgálati eredmények, így az ajánlások – az Antiplatelet Trialists' Collaboration ajánlása is – csak elméleti megfontolásokon alapulnak: az

aterotrombotikus betegségek profilaxisára az élethosszig tartó (life long) kis dózisú ASA kezelés jelenti a legígéretesebb stratégiát.

2.3.5. ASA-rezisztencia

Több mint 180 klinikai vizsgálat metaanalízise szerint az aspirin kardiovaszkuláris betegekben 25 %-kal csökkenti a szívinfarktus, a stroke, valamint a vaszkuláris halálozás rizikóját (Aspirin Trialists' Collaboration, 1988; Roux és mtsai, 1992). Instabil anginás betegeknél alkalmazott ASA terápia során a miokardiális infarktus és a koronária-halálozás előfordulása az utánkövetés első hónapjában 68 %-kal, míg az első év végén 62 %-kal csökkent a kontroll csoporthoz képest (RISC-Group, 1990). Miokardiális infarktuson átesett betegek körében az ASA 50 %-kal csökkentette a reinfarktusok számát és 23 %-kal a kardiovaszkuláris mortalitást az akut eseményt követő 5 hét alatt placebohoz viszonyítva (ISIS-2, 1988).

Ezen klinikai végpontú vizsgálatok során a gyógyszer hatékonyságának megállapítására szolgáló laboratóriumi tesztek nem végeztek. Felvetődött azonban a kérdés, hogy minden betegnél megfelelő-e az alkalmazott ASA terápia, vagy a dózis egyéni beállításával esetleg javítható-e annak hatékonysága. A trombocita aggregáció laboratóriumi mérésének elterjedésével fogalmazódott meg az ASA non-reszponzió fogalma, mely alatt azon betegeket értjük, akiknél magas ASA dózis mellett sem lehetett megfelelő aggregáció-gátlást kimutatni "ex vivo" módszerek segítségével. Azokat a betegeket, akik kezdetben jól reagáltak az alkalmazott kezelésre, azonban a gyógyszer változatlan dózisa mellett fél - egy év múlva laboratóriumi módszerekkel már nem bizonyult megfelelőnek náluk az aggregáció-gátlás hatékonysága, ASA rezisztenseknek nevezzük (Helgason, 1994).

Az ASA non-reszponzió és rezisztencia magyarázata különböző lehet:

1. Az aspirin nem a legerősebb trombocitagátló szer.
2. Az aspirinnel gátolt TxA₂ aktiváció mellett az ADP, trombin, kollagén, adrenalin indukálta vérlemezke-aktiváció lehetősége megmarad, ami tromboembóliás eseményt okozhat.
3. Egyes személyek ASA érzékenysége különböző. Csökkent érzékenység mellett az alkalmazott dózis kevés lehet a ciklooxygenáz komplett gátlásához (Ranke és mtsai, 1993).
4. A betegek egy csoportja esetleg teljesen ASA-rezisztens – őket nevezzük „ASA non-reszponder”-eknek, szemben az ASA „reszponderekkel”, akiknek trombocitáit gátolja az aspirin. A különbséget a ciklooxygenáz enzim altípusai (COX-1, COX-2 izoform) magyarázhatják (Weber és mtsai, 1999). A non-reszponderek számát a kezelt betegek 8-12 %-ára teszik (Poggio és mtsai, 1999).
5. Végül felvetik azt is, hogy maga az ASA kezelés vezethet fokozott tromboembóliás rizikóhoz azáltal, hogy az arachidonsavat a ciklooxygenáz helyett a lipooxygenáz enzim metabolizálja 12-hidroxi-eikozatetraénsavvá, mely fokozza a vérlemezkék adhézióját majd aggregációját (Buchanan és mtsai, 1986; Buchanan és mtsai, 1995).

A HOPE tanulmány eredményei szerint minél magasabb a vizelet 11-dehidro-tromboxán B₂ koncentrációja ezen betegeknél, annál nagyobb a miokardiális infarktus és a kardiovaszkuláris halálozás kockázata (Eikelboom, 2002). Egy másik feltevés szerint a P1^{A2} allél homozigóta betegek vérlemezkéi az agonista ingerre fokozott aktivációval válaszolnak, valamint kevésbé érzékenyek aspirin kezelésre. Mindezen tényezők mellett életmódbeli faktorok szerepe is felvetődött (Fusegawa és mtsa, 2000; Renaud és mtsa, 1996). A különböző munkacsoportok a non-reszponder betegek arányát eltérő mértékűnek, de mindenképpen jelentősnek, mintegy 10-40 % közöttinek

adják meg (Alexy és mtsai., 2003; Buchanan és mtsa., 1995; Grotmeyer, 1991; Gum és mtsai., 2003; Késmárky és mtsai., 2003; Márton és mtsai. 2003; Pongrácz és mtsai., 2002; Tarján és mtsai., 1999; Tarján és mtsai., 2002).

A trombocita-aktiváció és aggregáció egyes részfolyamatainak pontosabb feltárása lehetővé tette az ASA-tól eltérő hatásmechanizmusú, annál hatékonyabb gyógyszerek fejlesztését (Saltiel és mtsa., 1987). Az adenzin difoszfát (ADP) molekula sejtfelszíni, purinerg receptorhoz való kötődése csökkenti az intracelluláris ciklikus adenzin monofoszfát (cAMP) aktivitását, növeli a TxA_2 szintet, alakváltozást okoz, valamint serkenti a GP IIb/IIIa receptorok aktiválódását. Ezen ADP receptorok szelektíven és irreverzibilisen gátolhatók a tienopiridin csoportba tartozó ticlopidin és clopidogrel vegyületekkel.

2.4. Clopidogrel

A tienopiridinek családjába tartozó clopidogrel a trombociták $P2Y_{12}$ purinerg receptorán hat (Weber és mtsai., 1999), részlegesen gátolva az ADP receptorokat és a GP IIb/IIIa komplex ezt követő ADP-közvetített aktiválását, ezáltal trombocita aggregáció gátlást eredményez. A fenti folyamat megvalósításához a clopidogrel biológiai átalakulására van szükség. A clopidogrel gátolja a más agonisták által kiváltott trombocita aggregációt is azáltal, hogy megakadályozza a felszabadult ADP trombocita aktivitását fokozó hatását. A clopidogrel a trombocita ADP receptor irreverzibilis módosításával hat. Következésképpen a clopidogrelnek kitett trombociták esetében ez a hatás élettartamuk hátralevő szakaszában fennmarad és a normális trombocitaműködés a trombocita "turnover"-nek megfelelő mértékben áll be. Több klinikai tanulmány igazolta a gyógyszer pozitív hatását AICS-án átesett betegekben (CAPRIE, 1996; Yusuf

és mtsai., 2001; Bhatt és mtsai., 2002; Steinhubl és mtsai., 2002). Napi 75 mg adagok ismételt adagolása az első naptól kezdve lényegesen gátolta az ADP-indukálta trombocita aggregációt, ez a hatás fokozatosan növekedett és a 3.-7. nap között "steady state" alakult ki. Steady state-ben az átlag gátlási szint 75 mg napi adag mellett 40 % és 60 % között volt. A trombocita aggregáció és a vérzési idő fokozatosan visszaállt az alapértékre, általában 5 nappal a kezelés megszakítása után.

A hatás nagyfokú interindividuális variabilitást mutat (Gurbel és mtsai., 2003), egyes kutatók szerint az eltérő hatásért az egyének genetikai különbözősége a felelős. A clopidogrel biztonságosságát és hatásosságát vaszkuláris iszkémiás történések megelőzésében két kettősvak vizsgálatban értékelték: a CAPRIE vizsgálatban a clopidogrelt ASA-val, a CURE vizsgálatban az ASA-val kombinált clopidogrelt, placebo + ASA-val hasonlították össze.

A CAPRIE vizsgálatban 19185 beteg vett részt, akinek aterotrombózisra friss miokardiális infarktusként (< 35 nap), iszkémiás stroke (7. nap és 6. hónap között) vagy igazolt perifériás artériás betegség (PAD) formájában nyilvánult meg. A betegeket randomizáltan 75 mg/nap clopidogrellel vagy 325 mg/nap ASA-val kezelték és 1-3 éven át figyelték meg. A miokardiális infarktus alcsoportban a legtöbb beteg az akut infarktust követő első néhány napban ASA-t kapott.

A clopidogrel szignifikánsan csökkentette az új iszkémiás történések előfordulását (miokardiális infarktus, iszkémiás stroke és vaszkuláris halál kombinált végpontja) az ASA-val összehasonlítva. Az "intention to treat" analízisben 939 eseményt figyeltek meg a clopidogrel csoportban és 1020 eseményt az ASA-val kezeltékben (relatív rizikócsökkenés (RRR) 8,7 %, [95 % CI: 0,2-16,4]; p = 0,045), ami azt jelenti, hogy minden 1000, két évig kezelt beteg esetében további 10 [CI: 0-20] betegben előzték meg az újabb iszkémiás történések bekövetkezését. A teljes mortalitás,

mint másodlagos végpont analízise nem mutatott szignifikáns különbséget a clopidogrel (5,8 %) és az ASA (6,0 %) csoport között.

Egy alcsoportok szerinti analízisben (miokardiális infarktus, iszkémiás stroke és PAD) a legnagyobb előny (statisztikai szignifikancia $p = 0,003$) a PAD miatt beválasztott betegekben mutatkozott. Elsősorban azokban a betegekben, akiknek anamnézisében miokardiális infarktus szerepelt (RRR = 23,7 %, CI: 8,9-36,2) és gyengébb volt (nem különbözött szignifikánsan az ASA-tól) a stroke-ot szenvedett betegekben (RRR = 7,3 %, CI: 5,7-18,7). Azokban, akiket kizárólag friss miokardiális infarktus alapján választottak be a vizsgálatba, clopidogrel hatása számszerűen gyengébbnek mutatkozott, de statisztikailag nem különbözött az ASA-tól (RRR = -4,0 %, CI: -22,5-11,7). Életkor szerinti alcsoport analízis alapján a 75 év feletti betegekben a clopidogrel előnye kisebb volt, mint a 75 év alattiakban (CAPRIE, 1996).

Mivel a CAPRIE-ban nem vizsgálták a hatásosságot az egyes alcsoportok szerint, nem világos, hogy a relatív kockázatcsökkenés az állapotok minősítésében valóságos vagy véletlenszerű.

A CURE vizsgálatban 12562 ST-elevációval nem járó, AICS-ás, a legújabb mellkasi fájdalom vagy az iszkémiának megfelelő klinikai tünetek megjelenése után 24 órán belül jelentkező betegek vettek részt. A beválasztáshoz az új iszkémiának megfelelő EKG eltérés, vagy legalább a normális felső határérték kétszereséig emelkedett szívizomenzim (troponin I vagy T) szint volt szükséges. A betegeket randomizáltan clopidogrellel (300 mg telítődózis, majd 75 mg/nap, $n=6259$) vagy placeboval ($n=6303$), mindkettőt ASA (75-325 mg/nap) és más standard terápiával kombinálva 1 évig kezelték. A CURE-ban 823 (6,6 %) beteg kapott GP IIb/IIIa receptor antagonistát is. A betegek több mint 90 %-a részesült heparin kezelésben, és az

együttadott heparin nem befolyásolta szignifikáns mértékben a clopidogrel és placebo csoport között a vérzések relatív előfordulási arányát.

Az elsődleges végpont (kardiovaszkuláris halál, miokardiális infarktus vagy stroke) a clopidogrel csoportban 582 (9,3 %), a placebo csoportban 719 (11,4 %) betegben fordult elő. Ez a clopidogrel csoportban 20 % relatív rizikócsökkenést jelentett (95 %-os CI: 10 %-28 %, $p < 0,00009$). 17 % volt a relatív rizikócsökkenés a konzervatív kezelést kapott betegekben, 29 % a stenttel vagy stent nélküli végrehajtott perkután transzluminális koronária angioplasztika (PTCA) esetén és 10 % a koronária bypass graft (CABG) műtéten átesett betegekben. Az új kardiovaszkuláris eseményeket (elsődleges végpont) az első hónapban 22 %-os (CI: 8,6-33,4); az 1-3. hónapban 32 %-os (CI: 12,8-46,4); a 3-6. hónapban 4 %-os (CI: -26,9-26,7); a 6-9. hónapban 6 %-os (CI: -33,5-34,3) és a 9-12. hónapban 14 %-os (CI: -31,6-44,2) relatív kockázatsökkenéssel előzték meg. Következésképpen, a három hónapot meghaladó kezelés esetén, a clopidogrel és ASA kombinációt szedő csoportban megfigyelt előny tovább nem növekedett, jóllehet a vérzés kockázata nőtt.

A CURE vizsgálatban clopidogrel adagoláskor csökkent a trombolitikus kezelés (RRR = 43,3 % CI: 12,8 %-46,4 %) és GP IIb/IIIa inhibitorok iránti igény (RRR = 18,2 % CI: 6,5 %-28,3 %).

A kiegészített (co-primary) végpont (kardiovaszkuláris halál, miokardiális infarktus, stroke vagy refrakter iszkémia) 1035 (16,5 %) betegben fordult elő a clopidogrel csoportban és 1187 betegben (19,8 %) a placebo csoportban. Ez a clopidogrel csoportban 14 %-os relatív rizikócsökkenésnek (95 %-os CI: 6 %-21 %, $p = 0,0005$) felelt meg.

A haszon főleg a statisztikailag szignifikáns miokardiális infarktus incidencia csökkenésből származott [287 (4,6 %) a clopidogrel csoportban és 363 (5,8 %) a

placebo csoportban]. Az instabil angina miatt történt rehospitalizációs arányban nem észleltek változást.

A betegek különböző alcsoportjaiban (pl. instabil angina, non-Q miokardiális infarktus, alacsony ill. magas rizikószintű betegek, diabétesz mellitusz, revaszkularizáció igénye, kor, nem, stb.) elért eredmények megegyeztek az elsődleges analízis eredményeivel. A clopidogrellel elért előny nem függött más, akut vagy hosszú távú kardiovaszkuláris terápiától (mint heparin/kismolekulatömegű heparin, GP IIb/IIIa antagonisták, lipidcsökkentő szerek, béta blokkolók és ACE gátlók). A clopidogrel hatékonysága az alkalmazott ASA dózistól (75-325 mg/nap) függetlenül megnyilvánult (Mehta és mtsai, 2000).

2.4.1. Farmakokinetikai tulajdonságok

Napi 75 mg orális dózis ismételt adagolása után a clopidogrel gyorsan felszívódik. Az eredeti vegyület plazmakoncentrációi nagyon alacsonyak és még 2 óra után is a mérési határ alatt (0,00025 mg/l) vannak. A clopidogrel metabolitok vizelet-kiválasztása alapján a felszívódás legalább 50 %-os.

A clopidogrelt nagymértékben a máj metabolizálja. A plazmában keringő vegyület kb. 85 %-át az inaktív fő metabolit, a karboxilsav származék teszi ki. E metabolit plazma csúcskoncentrációját (kb. 3 mg/l 75 mg orális dózis ismételt adagolása után) körülbelül 1 órával a bevétel után érte el.

A clopidogrel egy "prodrug". Az aktív metabolit, egy tiol származék, a clopidogrel 2-oxo-clopidogrellé történő oxidációja és ezt követő hidrolízise által képződik. Az oxidációt elsősorban a citokróm P450 2B6 és 3A4 izoenzimek és kisebb mértékben 1A1, 1A2 és 2C19 szabályozzák. Az aktív tiol metabolit, amelyet in vitro

izoláltak, gyorsan és irreverzibilisen kötődik a trombocita receptorokhoz és így gátolja a trombocita aggregációt. A clopidogrel és fő keringő metabolitjai in vitro reverzibilisen kötődnek a humán plazma proteinekhez (98 % ill. 94 %). A kötődés in vitro széles koncentráció határokon belül nem telítődő.

¹⁴C-jelzett clopidogrel per os alkalmazása után 120 órán belül kb. 50 % a vizelettel és kb. 46 % a széklettel ürült. A fő keringő metabolit eliminációs félideje egyszeri és ismételt adagolás után 8 óra volt.

A clopidogrel 75 mg dózisának ismételt adagolása után a keringő fő metabolit plazmaszintjei alacsonyabbak voltak súlyos vesebetegségben szenvedő betegekben (creatinin clearance 5-15 ml/perc) mint a közepesen súlyos vesebetegségben (creatinin clearance 30-60 ml/perc) és más vizsgálatokban, egészséges egyéneknél mért értékekkel. Bár az ADP-vel indukált trombocita aggregáció gátlása kisebb mértékű volt (25 %) az egészséges egyéneknél megfigyelténél, a vérzési idő meghosszabbodása hasonló volt a clopidogrel 75 mg napi adagját szedő egyénekéhez, ráadásul a klinikai tolerancia minden beteg esetében jó volt.

A clopidogrel farmakokinetikáját és farmakodinamikáját egyszeri és többszöri adagolásban vizsgálták egészséges egyéneknél és Child-Pugh A vagy B stádiumú cirrózisos személyekben. A clopidogrel napi 75 mg adagjának 10 napon át való adagolása biztonságos és jól tolerálható volt. Cirrózisos egyéneknél a clopidogrel C_{max} értéke mind egyszeri adagolás, mind "steady-state" esetében többszöröse volt a normál személyekben találtaknak. A fő metabolit plazma-szintjei valamint clopidogrel hatása az ADP-indukált trombocita aggregációra és vérzésre hasonló volt a két csoportban.

2.4.2. Clopidogrel rezisztencia

A kettős trombocita aggregáció gátló kezelés (ASA + clopidogrel) hatására PTCA-án átesett betegekben a sztent trombozissal és in-szentenózissal gyakorisága

jelentős mértékben csökkent, azonban a betegek 4-5 %-ában még mindig észlelhető. Ez a tény felveti az elégtelen trombocita aggregáció gátlás, a clopidogrel rezisztencia szerepét. Gurbel és mtsai két vizsgálat során (2003, 2004) illetve Késmárky és mtsai (2001) is igazolták, hogy PTCA után erősebb a trombocita aktiváció egyes betegekben, ezáltal a standard 300 mg clopidogrel nem biztosít megfelelő aggregáció gátlást. Muller és mtsai (2003) 105 beteget vizsgáltak, akik 600 mg kezdődózis után 75 mg clopidogrelt és 100 mg ASA-t kaptak PTCA előtt. A trombocita aggregációt 5 $\mu\text{mol/l}$ és 20 $\mu\text{mol/l}$ ADP-vel indukálva azt találták, hogy a betegek 5-11 %-ában (5 és 20 $\mu\text{mol/l}$ ADP hatására) 10 % alatti aggregáció gátlást (non-reszponderek), 9-26 %-ban (5-20 $\mu\text{mol/l}$ ADP) 29 % alatti gátlást (szemi-reszponderek) értek el. Soffer és mtsai (2003) stabil és instabil anginás betegeknél vizsgálták 450 mg clopidogrel kezdődózist követően a trombocita aggregáció gátlás hatásosságát, és megállapították, hogy a stabil anginás illetve a Braunwald I. osztályú instabil anginás betegek esetében sokkal hatásosabb volt a kezelés a Braunwald II. és III. osztályú csoporthoz képest. Jelentős interindividuais különbségeket észleltek az azonos angina-csoportba tartozó egyének között is. A vizsgálatok eredményei alapján felvetették az egyéni trombocita aggregáció gátlás monitorozásának és az egyénre szabott clopidogrel dózis szükségességét.

Matetzky és mtsai (2004) ST elevációval járó AICS miatt PTCA-án és sztent implantáción átesett, clopidogrellel kezelt betegnél végeztek aggregometriai méréseket. A betegek 25 %-ában észleltek clopidogrel rezisztenciát, közülük 40 %-nak jelentkezett ismételt kardiovaszkuláris eseménye a hat hónapos utánkövetés során. A clopidogrelre reagáló betegek csoportjában ez az arány 6,7 %-nak bizonyult.

Quinn és Topol (2001) összefoglaló tanulmányukban a clopidogrel rezisztencia hátterében a P2Y₁₂ ADP receptor gén mutáció és a P1A polimorfizmus szerepét vetette fel, további farmakogenetikai vizsgálatok szükségességét hangsúlyozva.

2.5. Génmutációk

Az AICS kialakulásában számos klasszikus rizikófaktor mellett genetikai eltérések szerepe is felmerült. Ezen mutációk szerepét egyes munkacsoportok megerősítették, mások azonban cáfolták. A különböző eredmények az eltérő népcsoportok közötti genetikai változékonysággal magyarázhatók. Az általunk vizsgált mutációk a leggyakrabban vizsgáltak közé tartoznak az irodalomban, a PIA polimorfizmus szerepét a különböző trombocita aggregáció gátló szerekkel szembeni rezisztencia kapcsán is felvetették.

2.5.1. Angiotenzin konvertáló enzim (ACE) inzerció/deléción (I/D) polimorfizmus

Az angiotenzin I-et konvertáló enzim a renin-angiotenzin rendszer kulcsenzime, amelyet a magasvérnyomás-betegség, szívelégtelenség és iszkémiás szívbetegség kezelése során fontos terápiás célpontként azonosítottak. Az ACE plazma aktivitás egyénenként jelentősen eltérhet egymástól (Cambien és mtsai, 1988). Az interindividuális eltérések kb. 50 %-áért az ACE gén felelős (Rigat és mtsai, 1990). A humán ACE gén 16-os intronjában inzerció (I)/deléción (D) polimorfizmust mutattak ki (Tiret és mtsai., 1992), mely hozzájárul a keringésben lévő ACE szintjének változásához, a DD genotípusú egyéneknél az átlagos ACE szint kétszerese az II genotípusúakhoz képest, ID esetén intermedier szint észlelhető (Rigat és mtsai., 1990). Az emelkedett ACE szint növelheti a szív- és érrendszeri, valamint vese-rendellenességek kialakulásának, előrehaladásának és kedvezőtlen kimenetelének kockázatát. Számos tanulmányt végeztek a DD genotípus és a miokardiális infarktus

előfordulási gyakoriságának összefüggését vizsgálva, melyek egy része igazolta, más része kizárta a kapcsolatot (Cambien és mtsai, 1992; Bohn és mtsai, 1993; Oike és mtsai, 1995; Singer és mtsai, 1996; Jeunemaitre és mtsai, 1997; Samani és mtsai, 1996). Egy 4629 szívinfarktuson átesett beteget és 5934 kontroll személyt vizsgáló prospektív tanulmány során a DD genotípus nem bizonyult független rizikótényezőnek (Keavney és mtsai, 2000). Ugyancsak ellentmondóak az eredmények az ACE gén és a PTCA utáni resztenózis kapcsolatáról is (Samani és mtsai, 1995; Ohishi és mtsai, 1993; Amant és mtsai, 1997). Egyes szerzők az egymásnak ellentmondó eredményeket a különböző földrajzi területen élő populációk közötti genetikai különbségekkel magyarázzák (Bohn és mtsai, 1993; van Bockxmeer és mtsai, 2000).

2.5.2. Metilén tetrahidrofolát reduktáz (MTHFR) polimorfizmus

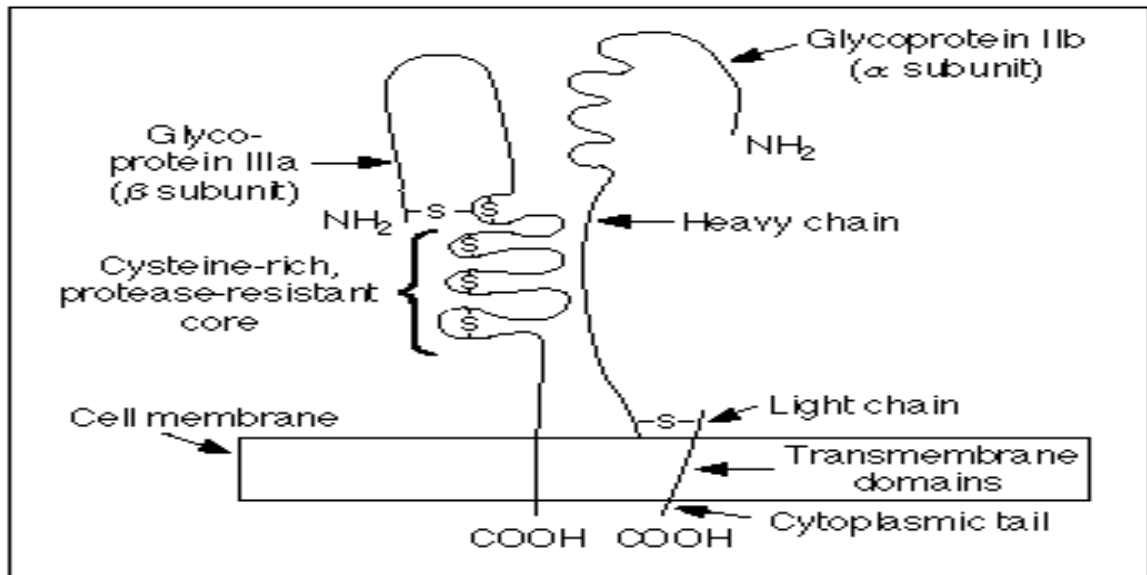
Az 5,10 metilén tetrahidrofolát reduktáz (MTHFR) a homocisztein folsav-dependens remetilációjában játszik szerepet, melynek során metionin keletkezik. Kang és mtsai (1988) észleltek egy csökkent aktivitású hőlabilis enzimet, mely következményesen enyhe homocisztein-szint emelkedést eredményezett. Az MTHFR-t kódoló gén 677-es pozíciójában bekövetkező C-T mutációra homozigóta egyénekben emelkedett homocisztein szint észlelhető (Frosst és mtsai, 1995), főként csökkent szérum folsav szint mellett (Jacques és mtsai, 1996). Az MTHFR defektusa autoszomális recesszív betegség. Boushey és mtsai (1995) 27 vizsgálat meta-analízise során igazolták, hogy az emelkedett homocisztein szint az iszkémiás szívbetegség, stroke és perifériás érbetegség független rizikófaktora. Kluijtmans és mtsai kimutatták (1997), hogy heterozigóta egyénekben is magasabb a homocisztein szint, mint a normál homozigóta populációban. Több kutató is vizsgálta a kóros allélre homozigóta állapot és

az iszkémiás szívbetegség közötti esetleges ok-okozati kapcsolatot. A vizsgálatok egy része igazolta (Gallagher és mtsai, 1996; Kluijtmans és mtsai, 1997), mások cáfolták az összefüggést (Ma és mtsai, 1996; Adams és mtsai, 1996; Izumi és mtsai, 1996).

2.5.3. Glikoprotein (GP) IIIa trombocita receptor PIA (A1/A2) polimorfizmus

PIA (trombocita specifikus antigén) a GP IIb/IIIa családba tartozó vérlemezke membrán-receptor (3. ábra), amely a von Willebrand faktort és a fibrinogént köti meg, fontos szerepet játszva a trombocita aggregációban. A PI^{A1} allél gyakorisága a kaukázusi rasszban 97,75 %, a PI^{A2} allélé pedig 2,25 %. A két allél egy nukleotidban tér el egymástól: a glikoprotein IIIa gén 2. exonjának 1565-ös pozíciójában a PI^{A1} allél esetén T, míg PI^{A2} allél esetében C bázis van. Korábbi vizsgálatok azt sugallják, hogy a GP IIIa PI^{A2} polimorfizmusa kapcsolatban áll az AICS kialakulásának kockázatával, bár az adatok ellentmondásosak (Goldschmidt-Clermont és mtsai, 1999; Durante-Magnoni és mtsai, 1998; Gardemann és mtsai, 1998; Mamotte és mtsai, 1998; Hermann és mtsai, 1997; Samani és mtsai, 1997). A Framingham Offspring Study szerint a trombocita GP IIIa receptor 1 vagy 2 PI^{A2} alléljének jelenléte összefügg az alacsonyabb küszöb trombocita koncentrációval adrenalin stimulus során, valamint ADP stimulus esetén az alacsonyabb küszöbkonzentráció felé irányuló trenddel (Feng és mtsai, 1999). Cooke és mtsai (1998) összehasonlították a $PI^{A1/A1}$ homozigóta és a $PI^{A1/A2}$ heterozigóta betegek trombocitáinak aggregációját. A $PI^{A1/A1}$ homozigóta betegek trombocita aggregációjának 50 %-os gátlásához tízszer alacsonyabb átlagos ASA koncentráció volt szükséges a $PI^{A1/A2}$ heterozigóta betegekhez képest. A fentiek alapján Cooke és munkatársai azt a következtetést vonták le, hogy az ASA trombocita aggregációt gátló mechanizmusában a fibrinogén receptor GP IIIa alegységének egy epitópja is részt vesz,

melyet a PI^A polimorfizmus befolyásol. Más kutatók is hasonló kapcsolatot találtak a PI^{A2} allél és a trombociták ASA-ra adott válasza között (Szczeplik és mtsai, 2000; Andrioli és mtsai, 2000).



3. ábra. A GP IIb/IIIa receptor sematikus ábrája

2.5.4. Limfotoxin alfa (LTA) génmutációk

A limfotoxin alfa egy gyulladáshoz vezető citokin, mely kulcsszerepet játszik a lokális vaszkuláris gyulladáshoz vezető folyamatok iniciálásában. Hatással van az adhéziós molekulák termelésére, a trombogenezisre, a simaizom proliferációt fokozza, vasoaktív anyagok termelését serkenti, és elősegíti a trombocita aggregációt (Ross, 1999; DeGraba, 1997; Selwyn és mtsai, 1997; Maseri, 1997). Ezen tulajdonságai miatt teoretikusan az atherosclerosis plakkok iniciálásában és kialakulásában is fontos szerepe lehet. A LTA gén a 6. kromoszóma rövid karján helyezkedik el. Több pontmutációt is leírtak, melyek fokozott limfotoxin termeléssel járnak. Számos európai és japán tanulmány vizsgálta a

különböző LTA mutációk iszkémiás szívbetegségben és szívinfarktusból játszott szerepét.

LTA 1: Limfotóxin A (TNF β) gén 1. intron 252 pozíciójában A és G nukleotidvariációk fordulhatnak elő. Japán kutatók a homozigóta GG genotípust miokardiális infarktusból átesett betegekben szignifikánsan gyakoribbnak találták, mint egészséges kontrollokban (Ozaki és mtsai, 2002; Yamada és mtsai, 2004; Iwanaga és mtsai, 2004), ugyanakkor több európai vizsgálat nem talált összefüggést a homozigóta állapot és a szívinfaktus vagy iszkémiás szívbetegség között (Warzocha és mtsai, 1998; Padovani és mtsai, 2000; Keso és mtsai, 2001; Koch és mtsai, 2001).

LTA 3: Limfotóxin A (TNF β) gén 3. exonjában, a 804. pozícióban, Thr26Asn aminosavcserével járó C és A nukleotidvariációkat írtak le. Japán kutatók a homozigóta AA genotípust miokardiális infarktusból átesett betegekben szignifikánsan gyakoribbnak találták, mint egészséges kontrollokban (Yamada és mtsai, 2004; Iwanaga és mtsai, 2004). Kaukázusi populációban nem vizsgálták a LTA C804A mutáció szerepét iszkémiás szívbetegeken.

3. CÉLKITŰZÉSEK

1. Az irodalomban számos genetikai mutáció szerepét vetették fel az AICS kialakulásának hátterében. A patogenezisben a trombociták aggregációjának, illetve az aggregáció folyamatában a GP IIb/IIIa trombocita felszíni receptornak kulcsszerepe van. A III/a alegységet kódoló gén egy mutációjáról (PIA) több különböző populációban igazolták, hogy szerepe lehet az AICS kialakulásában, azonban más populációkban ezt cáfolták. Az emelkedett ACE szint és az ACE I/D polimorfizmus közötti összefüggést közölték az irodalomban, egyes közlemények felvetették a D allél és a miokardiális infarktus közötti kapcsolatot. Az emelkedett szérum homocisztein szint ismert rizikófaktora az AICS kialakulásának. Az MTHFR gén mutációja és a szérum homocisztein szint között egyenes összefüggést írtak le. Az AICS kialakulásában az elmúlt években gyuladós folyamatok szerepét igazolták. Japán kutatók leírták a limfotoxin alfa két mutációjának (LTA1 és LTA2) szerepét a miokardiális infarktus kialakulásában. A fenti mutációk és az AICS kialakulása közötti összefüggést hazai populációban még nem közölték, ezért vizsgálni kívántuk a PIA, ACE, MTHFR, LTA1 és LTA3 gének mutációinak szerepét a hazai AICS-án átesett populációban.

2. Az iszkémiás verőérbetegségek (AICS, stroke és perifériás verőérbetegség) alapterápiája az ASA, melynek a morbiditásra és mortalitásra kifejtett pozitív hatását számos tanulmány igazolta. Az is ismert azonban, hogy a populáció közel 30 %-a rezisztens az ASA kezelésre. Az elmúlt időben több közlemény mutatott ki összefüggést az ASA rezisztencia és a fokozott mortalitás között miokardiális infarktuson átesett betegeken. A fentiek miatt merült fel annak szükségessége, hogy kiválasszuk azon

betegeket, akik várhatóan rezisztensek lesznek az ASA kezelésre. Ezért mérni kívántuk az AICS, iszkémiás stroke és perifériás verőérbetegség miatt ASA-t szedő betegekben a gyógyszer hatásosságát, vizsgálni kívántuk a PI^{A2} allél szerepét az ASA rezisztencia kialakulásában.

3. A clopidogrel kezelés hatásosságára vonatkozó adatok azt igazolják, hogy ASA rezisztens betegek elfogadott alternatív kezelése a clopidogrel. A kezdeti adatok szerint clopidogrel rezisztencia csak kis számban volt észlelhető, azonban újabb vizsgálatok kimutatták, hogy a clopidogrel kezelés laboratóriumi hatásossága is csak 70-80 %-os. Nem ismert azonban, hogy a clopidogrel rezisztencia összefüggésben van-e a PI^{A2} allél jelenlétével. Ezért választ kerestünk arra, hogy a szekunder prevenció céljából adott clopidogrel hatását befolyásolja-e a PI^{A2} allél jelenléte, valamint hogy a PI^{A2} allélt hordozó egyéneknél célszerű-e ASA helyett clopidogrel kezelést indítani.

4. VIZSGÁLATAINK

Vizsgálatainkat három csoportba soroltuk:

1. AICS-án átesett betegekben megvizsgáltuk a PIA, ACE, MTHFR, LTA1 és LTA3 polimorfizmusok előfordulási gyakoriságát, és összehasonlítottuk egészséges önkéntes kontroll populációban észleltekkkel;
2. AICS-án, iszkémiás stroke-on átesett, valamint egyéb okokból acetilszalicilsavat szedő betegekben meghatároztuk az ASA trombocita aggregáció gátló hatékonyságát, és vizsgáltuk a PIA polimorfizmus és ASA rezisztencia közötti összefüggést;
3. AICS vagy iszkémiás stroke miatt clopidogrel kezelésben részesülő betegekben mértük a terápia hatásosságát, és vizsgáltuk a rezisztencia feltételezett genetikai hátterét.

4.1. AICS-án átesett betegek és egészséges önkéntes kontroll populáció genetikai vizsgálata

4.1.1. Betegek:

181 AICS-án átesett betegben (68 nő, 113 férfi, átlagéletkor: $65,2 \pm 12,1$ év) vizsgáltuk a P1A, az MTHFR C677T és az ACE I/D gén polimorfizmust, összehasonlítva 232 egészséges személlyel (110 nő, 122 férfi, átlagéletkor: $34,4 \pm 10,2$ év). Technikai okok miatt a kontroll személyek közül csak 192 esetben vizsgáltuk az ACE polimorfizmust. 110 betegnél (32 nő, 78 férfi, átlagéletkor: $64,3 \pm 10,9$ év) a LTA gyakoriságát hasonlítottuk össze 101 egészséges személlyel (51 nő, 50 férfi, átlagéletkor: $29,5 \pm 8,9$ év).

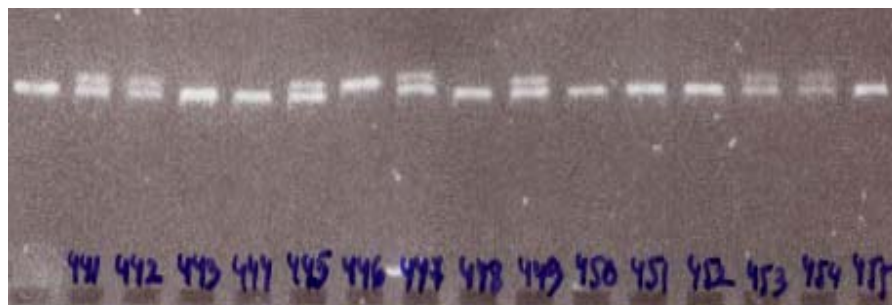
AICS-át diagnosztizáltunk, amennyiben a betegnek típusos mellkasi fájdalma, EKG-ján legalább két összetartozó elvezetésben 1 mm-t meghaladó ST depressziója, ST elevációja, új vagy feltételezetten új bal Tawara szár blokkja volt és/vagy emelkedett szérum Troponin I vagy Troponin T értéke volt.

A tanulmányhoz a Pécsi Tudományegyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Regionális Kutatás Etikai Bizottsága hozzájárult, a betegek és az egészséges kontroll személyek részletes felvilágosítást követően írásos beleegyezésüket adták a vizsgálatba.

4.1.2. Módszerek:

4.1.2.1. MTHFR C677T mutációanalízis

A vizsgálat elvégzéséhez szűrőpapírra beszárított vércseppből az alábbi módon nyertünk DNS extraktumot: a szűrőpapírból kivágott kis darabot (5x5 mm) egy Eppendorf-csőbe helyeztük, majd 300 µl metanolt adtunk hozzá fixálás céljából és szobahőmérsékleten 1 órát állni hagytuk. A metanol eltávolítása után 2 órán át tartó szárítást követően 200 µl steril vízzel 15 percig 97 °C-on forraltuk a mintát. A DNS-t is tartalmazó felülúszót használtuk az amplifikáció során. A polimeráz láncrekció (PCR) reakció az 5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3' és az 5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3' primer pár segítségével az alábbi összetételű 50 µl végtérfogatú elegyben történt MJR PTC-200 készülékben: 10 µl DNS extraktum, 0,2 µM mindkét primerből, 5µl Taq polimeráz puffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 9,0, 0,1 % Triton X-100), 1 egység Taq-polimeráz, 20 µM minden egyes dNTP-ből. Az amplifikálás során a következő hőprogramot alkalmaztuk 33 ciklusban: 30 másodperc denaturálás 92 °C-on, 15 másodperc annealing 62 °C-on és 15 másodperc extenzió 72 °C-on. A C677T mutáció meghatározása céljából a PCR reakció során kapott 198 bp hosszúságú terméket Hinf I resztrikciós enzimmel emésztettük 37 °C-on 3 órán át.



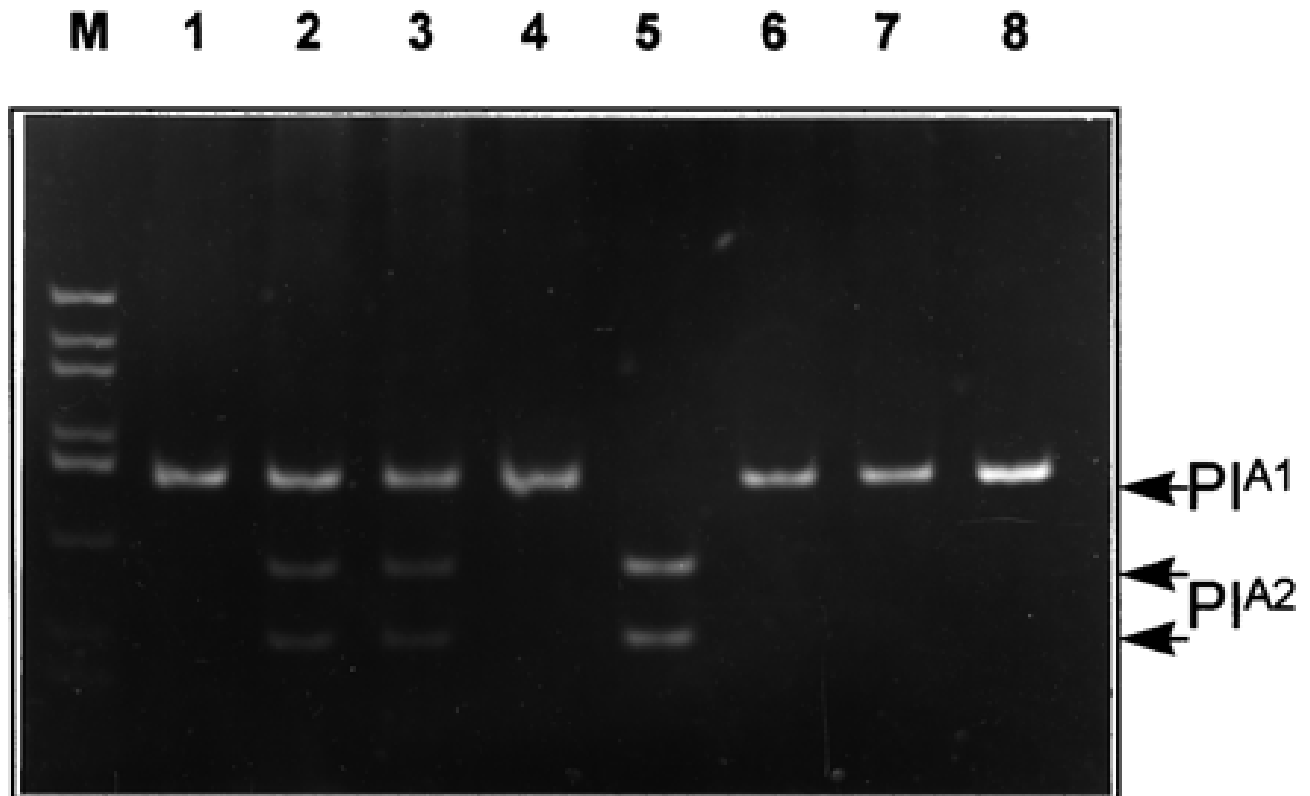
4. ábra. Az MTHFR mutáció gélelektroforetikus ábrája

Normál genotípus (CC) esetén nem hasít az enzim, mutáció (TT) előfordulásakor a kapott termékek nagysága 23 bp és 175 bp, míg heterozigóta (CT) formában a következő termékek keletkeznek: 23, 175 és 198 bp (4. ábra).

4.1.2.2. PIA trombocita receptor A1/A2 polimorfizmus

A vizsgálat elvégzéséhez szűrőpapírra beszárított vércseppből az alábbi módon nyertünk ki DNS extraktumot: a szűrőpapírból kivágott kis darabot (5x5 mm) egy Eppendorf-csőbe helyeztük, majd 300 µl metanolt adtunk hozzá fixálás céljából és szobahőmérsékleten 1 órát állni hagytuk. A metanol eltávolítása után 2 órán át tartó szárítást követően 200 µl steril vízzel 15 percig 97 °C-on forraltuk a mintát. A DNS-t is tartalmazó felülúszót használtuk az amplifikáció során. A PCR reakció az 5'-TCT GAT TGC TGG ACT TCT CTT-3' és az 5'-TCT CTC CCC GCA AAG AGT-3' primer pár segítségével az alábbi összetételű 50 µl végtérfogatú elegyben történt MJR PTC-200 készülékben: 30 µl DNS extraktum, 0,2 µM mindkét primerből, 5µl Taq polimeráz puffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 9,0, 0,1 % Triton X-100), 2 mM MgCl₂, 1 egység Taq-polimeráz, 20 µM minden egyes dNTP-ből. Az amplifikálás során a következő hőprogramot alkalmaztuk: 5 perc 94 °C-os elődenaturálást követően 35 ciklusban 1-1 perc denaturálás 93 °C-on, annealing 58 °C-on és extenzió 72 °C-on, majd 3 perc végső extenzió 72 °C-on. Az A1/A2 genotípus meghatározása céljából a PCR reakció során kapott 264 bp hosszúságú terméket Msp I restriktív enzimmel emésztettük 37 °C-on 3 órán át. A1/A1 genotípus esetén az emésztés kettő, egyenként 42, 222 bp hosszúságú terméket eredményez. A1/A2 genotípus előfordulásakor a kapott

termékek nagysága 42, 49 és 173 bp, míg A2/A2 genotípus során a következő termékek keletkeznek: 42, 49, 173 és 222 bp (5. ábra).



5. ábra. PIA polimorfizmus gélelektroforetikus ábrája

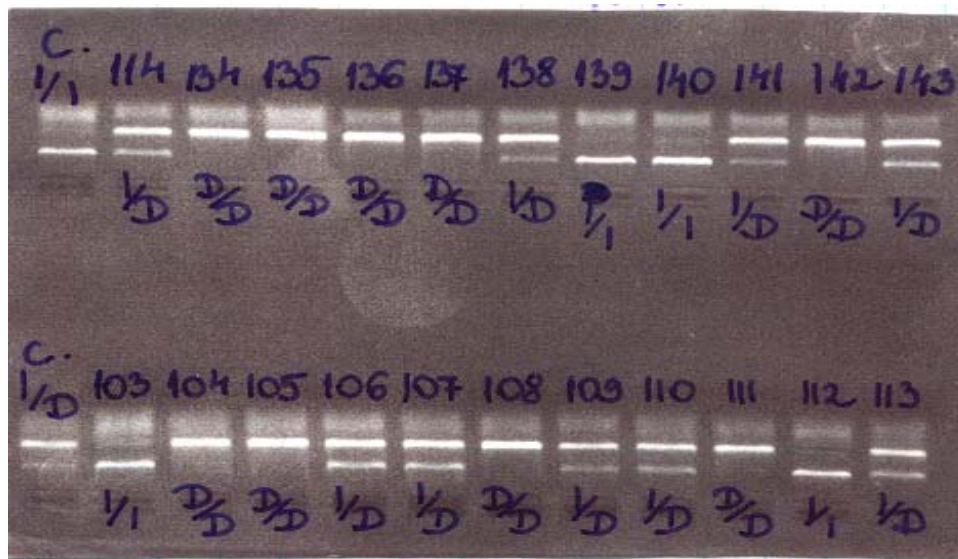
(Az ábrán M-mel jeleztük a DNS-markert, a PI^{A1} illetve PI^{A2} polimorfizmus gélelektroforetikus sávját nyíllal jelöltük.)

4.1.2.3. ACE I/D polimorfizmus

A vizsgálat elvégzéséhez szűrőpapírra beszárított vércseppből az alábbi módon nyertünk ki DNS extraktumot: a szűrőpapírból kivágott kis darabot (5x5 mm) egy Eppendorf-csőbe helyeztük, majd 300 μ l metanolt adtunk hozzá fixálás céljából és szobahőmérsékleten 1 órát állni hagytuk. A metanol eltávolítása után 2 órán át tartó

szárítást követően 200 µl steril vízzel 15 percig 97 °C-on forraltuk a mintát. A DNS-t is tartalmazó felülúszót használtuk az amplifikáció során. Az I és D allélok együttes felerősítését az ACEF: 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3' és az ACER: 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3' primer párokkal végeztük. Az I allél pontosabb detektálása céljából egy megerősítő PCR reakciót is elvégeztünk az ACEF2: 5'-TTT GAG ACG GAG TCT CGC TCT GTC-3' és az ACER: 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3' primer párokkal. A PCR reakció az alábbi összetételű 50 µl végtérfogatú elegyben történt MJR PTC-200 készülékben: 10 µl DNS extraktum, 0,2 µM mindkét primerből, 5µl Taq polimeráz puffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 9,0, 0,1 % Triton X-100), 1 mM MgCl₂, 1 egység Taq-polimeráz, 20 µM minden egyes dNTP-ből. Az amplifikálás során a következő hőprogramot alkalmaztuk: 5 perc 95 °C-os elődenaturálást követően 5 ciklusban 1-1 perc denaturálás 95 °C-on, annealing 70 °C-on és extenzió 72 °C-on, 5 ciklusban 1-1 perc denaturálás 95 °C-on, annealing 65 °C-on és extenzió 72 °C-on, 30 ciklusban 1-1 perc denaturálás 95 °C-on, annealing 60 °C-on és extenzió 72 °C-on, majd 10 perc végső extenzió 72 °C-on.

A PCR termékeket 3 %-os agaróz gélben futtatuk meg. Az ACEF – ACER primerek alkalmazása során D/D genotípus esetében 192 bp-os termék erősödik, I/I genotípus előfordulásakor 480 bp-os termék keletkezik, míg I/D genotípus megjelenése 192 bp és 480 bp termékeket ad. Az ACEF2 – ACER primerek használata során PCR terméket csak az I allélról kapunk, ennek nagysága 410 bp (6. ábra).



6. ábra. ACE polimorfizmus gélelektroforetikus ábrája

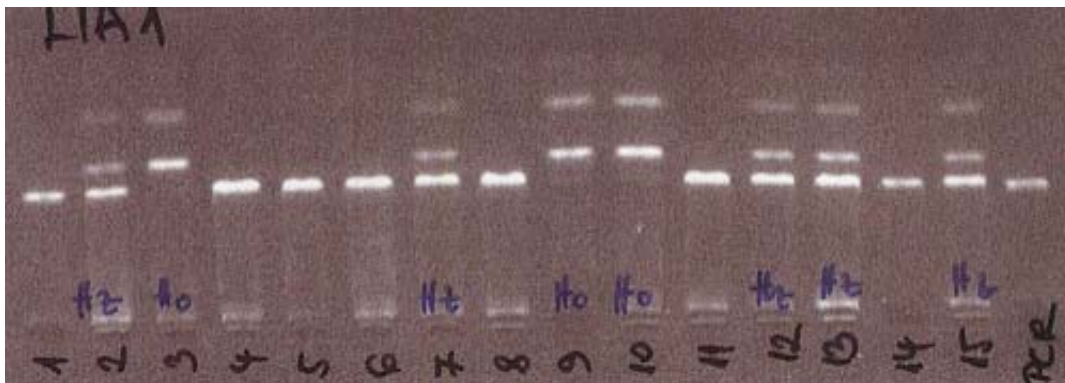
(A betegek sorszámai alatt tüntettük fel az adott beteg genotípusát [I/I, I/D, D/D])

4.1.2.4. LTA génmutációk

LTA1

A vizsgálat elvégzéséhez szükséges DNS izolálását alvadásgátolt perifériás vérmintából végeztük kisózásos technikával. A TNF β gén 323 bp-os DNS fragmentumának a felerősítéséhez az alábbi primereket terveztük: 5'-CCT TGG TGG GTT TGG TTT TGG TTT C-3' és az 5'-AAG AGA CGT TCA GGT GGT GCC ATG G-3'. A reverz primer szekvenciájába az Nco I restrikciós enzimmel történő emésztés hatékonyságának ellenőrzésére egy arteficiális vágási helyet terveztünk (aláhúzott szakasz). A PCR reakció az alábbi összetételű 50 μ l végtérfogatú elegyben történt MJR PTC-200 készülékben: 100-200 ng genomiális DNS, 0,2 μ M mindkét primerből, 5 μ l Taq polimeráz puffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 9,0, 0,1 % Triton X-100), 1

mM MgCl₂, 1 egység Taq-polimeráz, 20 μM minden egyes dNTP-ből. Az amplifikálás során a következő hőprogramot alkalmaztuk: 2 perc 95 °C-os elődenaturálást követően 35 ciklusban 30-30 másodperc denaturálás 95 °C-on, annealing 63 °C-on és extenzió 72 °C-on, majd 7 perc végső extenzió 72 °C-on. A 323 bp hosszúságú PCR terméket NcoI restriktions enzimmel emésztettük 37 °C-on 3 órán át. Normál esetben (AA) egy helyen vág az enzim és egy 24 bp valamint egy 299 bp termék keletkezik. Heterozigóta AG esetben 24, 89, 210 és 299 bp termékek jönnek létre. Homozigóta GG esetben 24, 89 és 210 bp termékek keletkeznek (7. ábra)



7. ábra. A LTA1 gélelektroforetikus ábrája

(A betegeket sorszámok jelölik, Hz-vel az AG heterozigóta, Ho-val a GG homozigóta állapotot tüntettük fel, a többi a normál AA genotípus.)

LTA3

A vizsgálat elvégzéséhez szükséges DNS izolálását alvadásgátolt perifériás vérmintából végeztük kisózásos technikával. A TNFβ gén 363 bp-os DNS fragmentumának a felerősítéséhez az alábbi primereket terveztük: 5'-TCT GTC TTC CGC CGC GTG C -3' és az 5'-AAT GAG GTG AGC AGC AGG TTT GAC G-3'. A reverz primer szekvenciájába az Tai I restriktions enzimmel történő emésztés

hatékonyságának ellenőrzésére egy arteficiális vágási helyet terveztünk (aláhúzott szakasz). A PCR reakció az alábbi összetételű 50 µl végtérfogatú elegyben történt MJR PTC-200 készülékben: 100-200 ng genomialis DNS, 0,2 µM mindkét primerből, 5µl Taq polimeráz puffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 9,0, 0,1 % Triton X-100), 1,5 mM MgCl₂, 1 egység Taq-polimeráz, 20 µM minden egyes dNTP-ből. Az amplifikálás során a következő hőprogramot alkalmaztuk: 2 perc 95 °C-os elődenaturálást követően 35 ciklusban 30-30 másodperc denaturálás 95 °C-on, annealing 63 °C-on és extenzió 72 °C-on, majd 7 perc végső extenzió 72 °C-on. A 363 bp hosszúságú PCR terméket Tai I enzimmel emésztettük meg 65 °C-on 3 órán át. Normál esetben (CC) 91 és 272 bp termékek jönnek létre. Heterozigóta AC esetben 22, 91, 250 és 272 hosszú termékek jönnek létre. Homozigóta AA esetben 22, 91 és 250 bp termékek jönnek létre.

4.1.2.5. Statisztika

Az AICS-án átesett betegek és a kontrollcsoport közötti különbségeket χ^2 -próbával határoztuk meg.

4.1.3. Eredmények:

A betegek közül 117 PIA1/A1 (64 %) genotípusú volt, 63 beteg A2 allél hordozónak bizonyult. Kilenc betegél (6 %) A2/A2 homozigóta állapotot igazoltunk. Az egészséges kontrollok között szignifikánsan kevesebb volt az A2 homozigóták aránya (3 fő) ($p < 0,05$) és az A2 allélt hordozók (A2/A2 és az A1/A2 genotípus együttesen 60 személy esetében) száma is ($p < 0,05$). A PIA allélek megoszlását az 1. táblázat, a betegek rizikófaktorainak megoszlását a 2. táblázat mutatja.

PIA	AICS	Kontroll
A1/A1	64 %	74 %
A1/A2	30 %	25 %
A2/A2	6 %	1 % *

* $p < 0,05$

1. táblázat. A PIA allélek megoszlása az AICS-án átesett betegekben és a kontroll személyekben

Diabétesz mellitusz	21 %
Hipertónia	75 %
Diszlipidémia	57 %
Dohányzás	39 %
Obezitás	46 %
Pozitív családi anamnesis	40 %

2. táblázat. A vizsgálatba bevont betegek rizikófaktorainak megoszlása

Az ACE genotípusok megoszlásában nem találtunk különbséget a két populáció között sem a D/D homozigóták (69 vs. 60 fő), sem a D allélt hordozók (155 és 163 személy) tekintetében.

Az ACE polimorfizmus genotípus szerinti megoszlását a 3. táblázatban tüntettük fel.

ACE	AICS	Kontroll
I/I	14 %	15 %
I/D	48 %	54 %
D/D	38 %	31 %

3. táblázat. Az ACE polimorfizmus genotípus szerinti megoszlása

A kóros MTHFR allélt hordozók szignifikánsan nagyobb arányban voltak az AICS-án átesett betegek között, mint a kontroll csoportban (116 vs. 126) ($p < 0,05$). Nem találtunk azonban különbséget a kóros homozigóta esetek számában (20 vs. 22). Nem volt szignifikáns különbség az allélgyakoriságokban sem a két populáció között. Az MTHFR polimorfizmus genotípus szerinti megoszlása a 4. táblázatban látható.

MTHFR	AICS	Kontroll
Normál	36 %	46 %
Heterozigóta	53 %	45 %
Homozigóta pozitív	11 %	9 %

4. táblázat. Az MTHFR polimorfizmus genotípus szerinti megoszlása

A LTA1 és LTA3 polimorfizmus allélgyakorisága megegyezett a két csoporton belül. Nem találtunk szignifikáns különbséget a kóros allél gyakoriságában, az allél hordozók számában és a homozigóta pozitív egyének arányában sem a két populáció összehasonlítása során. A LTA1 és LTA3 polimorfizmus genotípus szerinti megoszlása az 5. táblázatban látható.

LTA1 és LTA3	AICS	Kontroll
Normál	57 %	49 %
Heterozigóta	36 %	39 %
Homozigóta pozitív	7 %	12 %

5. táblázat. A LTA1 és LTA3 polimorfizmus genotípus szerinti megoszlása

4.2. A PIA polimorfizmus és acetilszalicilsav rezisztencia közötti összefüggés vizsgálata

4.2.1. Betegek:

A P1^{A2} allél jelenlétét 158 AICS-án (61 nő, 97 férfi, átlagéletkor: 64 ± 12 év), és 69 iszkémiás stroke-on (27 nő, 42 férfi, átlagéletkor: 67 ± 10 év) átesett betegnél vizsgáltuk. AICS-át diagnosztizáltunk, amennyiben a betegnek típusos mellkasi fájdalma, EKG-ján 1 mm-t meghaladó ST depressziója, ST elevációja, új vagy feltételezetten új bal Tawara szár blokkja volt és/vagy emelkedett szérum Troponin I vagy Troponin T értéke volt. A PTE Neurológiai Klinikán kezelt betegeknél koponya CT-vel igazolták az iszkémiás stroke-ot. Az ASA trombocita aggregáció gátló hatékonyságát ex vivo minden iszkémiás betegnél és 58 (32 nő, 26 férfi, átlagéletkor: 66 ± 11 év) ASA-t szedő, iszkémiás eseményen át nem esett, kardiovaszkuláris szempontból magas rizikójú betegnél megvizsgáltuk. Magas rizikójúnak tekintettük a betegeket, ha a Magyar Kardiológusok Társaságának 2004. évi ajánlása alapján (amely a Score Project eredményein alapul) a 10 éves végzetes kardiovaszkuláris esemény bekövetkeztének valószínűsége nagyobb volt 5 %-nál.

A tanulmányt a Pécsi Tudományegyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Regionális Kutatás Etikai Bizottsága engedélyezte, a betegek részletes felvilágosítást követően írásos beleegyezésüket adták a vizsgálatba.

4.2.2. Módszerek:

4.2.2.1. Trombocita aggregáció gátlás vizsgálata

A trombocita aggregáció méréséhez kubitális vénából 12 ml vért vettünk 3,8 %-os nátrium-citrát tartalmú Vacutainer csövekbe. A mintákat 150 g-n 10 percig centrifugáltuk, majd a trombocita dús felülúszót (platelet rich plasma, PRP) óvatosan eltávolítottuk. Ezt követően trombocita szegény plazma (platelet poor plasma, PPP) nyeréséhez a maradék mintákat 10 percig 2500 g-n ismételtén centrifugáltuk. A mérésekhez használt küvetákba 450-450 μ l PRP-t, illetve PPP-t pipettáztunk, majd a vérlemezkék aggregációját 50 μ l kollagén (2 μ g/ml), illetve adrenalin (10 μ M) hozzáadásával indukáltuk. Vizsgálatainkat a Born-féle turbidimetriás elven működő Carat TX-4 (Carat Diagnosztika Kft., Magyarország) négycsatornás trombocita aggregométerrel végeztük. Az individuális különbségek kiküszöbölésére a készülék tárolja a trombocita dús és trombocita szegény plazmák fényáteresztő képességét (PRP: 0 %, PPP: 100 %), majd az induktorokkal kiváltott aggregáció mértékét a PPP-PRP optikai sűrűségkülönbséghez viszonyítva számolja. A szuszpenzió fényáteresztő képessége az aggregáció mértékével párhuzamosan nő, melyet a műszerhez kapcsolt számítógép programja ábrázol. Az így nyert görbe egyik jellegzetes paraméterét, a maximális aggregáció értékét egészséges, gyógyszermentes egyéneken mért referencia értékekkel hasonlítottuk össze (6. táblázat). A mérés 10 perces időtartama alatt 37 °C-os inkubációt és folyamatos mágneses keverést (1000 rpm) alkalmaztunk. A minták vizsgálata a vérvételt követő 2 órán belül megtörtént.

Az ASA hatásának kontrolljához a kollagén és adrenalin indukálta aggregációt vizsgáltuk. Mivel nincs egységes álláspont arra nézve, mikor tekinthetjük hatásosnak a trombocita aggregáció gátló terápiát, az aggregáció maximumának csökkenését akkor

tekintettük az alkalmazott terápia következményének, ha az a kezeletlen kontroll populációra jellemző 95 %-os konfidencia intervallumon (átlag \pm 2x standard deviáció) kívül esett, ellenkező esetben hatástalannak véleményeztük a kezelést. Az aggregáció gátló terápia hatékonyságának értékelésekor figyelembe vettük a trombocita aggregométer gyártójának ajánlását is, ez alapján, amennyiben az alkalmazott gyógyszeres terápia kontrolljához használt induktorokkal kiváltott maximális aggregáció a referencia tartomány minimuma és 40 % közé esett akkor gyenge, míg 30-40 % között mérsékelt gátlást állapítottunk meg. Teljes (optimális) gátlást véleményeztünk, ha a maximális aggregáció értéke 30 % alatt volt (6. táblázat).

Induktor	Maximális aggregáció (%)			
	Hatástalan gátlás (referencia tartomány)	Gyenge	Mérsékelt	Teljes
ADP 5 μ M	62-91	41-61	31-40	0-30
ADP 10 μ M	62-91	41-61	31-40	0-30
Kollagén 2 μ g/ml	64-92	41-63	31-40	0-30
Adrenalin 10 μ M	60-88	41-59	31-40	0-30

6. táblázat. Az egyes induktorokra vonatkozó, a maximális aggregáció értéke alapján meghatározható aggregációs szintek

4.3.2.2. P1A trombocita receptor A1/A2 polimorfizmus

Az előző fejezetben (4.1.2.2.) leírtaknak megfelelően végeztük a vizsgálatot.

4.2.2.3. Statisztika

Az aspirin rezisztens és az aspirinre reagáló betegekben az előfordulási gyakoriságok közti különbségeket χ^2 -próbával vizsgáltuk.

Logisztikai regressziós analízist használtunk az aspirin rezisztencia független rizikófaktoraként szereplő PI^{A2} allél jelentőségének kimutatására. Az analízist életkorra, hipertóniára, diabétesz mellituszra, dohányzásra, diszlipidémiára, BMI-re korrigálva is elvégeztük, $p = 0,05$ szignifikancia szintet fogadva el. A logisztikai regressziós analízishez a Windows SYSTAT 10 statisztikai csomagját használtuk.

4.2.3. Eredmények:

Az ASA-t (152 mg-os átlagos napi dózisban) átlagosan 4,8 napja szedték az ASA rezisztens betegek, és 149 mg-os közepes dózisban átlagosan 5,3 napja a kezelésre adekvát választ adó betegek, így a kezelés dózisa és időtartama nem különbözött a két csoport között.

A 7. számú táblázat mutatja az iszkémiás szívbetegség rizikófaktorainak előfordulását a betegeknél és az ASA-t szedő magas rizikójú csoportnál. Mindhárom csoportban kb. 20 % volt a diabéteszesek, több mint 80 % a hipertóniások aránya és kb. 60 %-nak volt diszlipidémiája. Az iszkémiás populációkban a betegek kb. 35 %-a, a magas rizikójú betegek kb. 20 %-a dohányzott a vizsgálat idején. A betegek kb. felének magas volt a testtömeg indexe ($BMI > 25 \text{ kg/m}^2$).

Rizikófaktorok	AICS (n=158)	Iszkémiás stroke (n=69)	Magas rizikójú populáció (n=58)
Diabétesz	36 (23 %)	16 (23 %)	12 (21 %)
Hipertónia	133 (84 %)	62 (90 %)	52 (90 %)
Diszlipidémia	114 (72 %)	33 (48 %)	34 (59 %)
Jelenleg dohányos	57 (36 %)	26 (38 %)	12 (21 %)
Obezitás	63 (40 %)	28 (41 %)	32 (55 %)

7. táblázat. Az iszkémiás verőérbetegek és a magas kardiovaszkuláris kockázatú kontroll személyek rizikófaktorai

ASA kezelésre 166 fő reagált (132 beteg és 34 kontroll személy), inadekvát választ 119 esetben figyeltünk meg (95 beteg és 24 kontroll személy). A $PI^{A2/A2}$ genotípus csak ASA rezisztens egyéneknél fordult elő (9 fő), $A2$ homozigóták nem voltak az ASA-ra megfelelően reagálók között. A PI^{A2} allél gyakorisága szignifikánsan magasabb volt az ASA rezisztens egyéneknél, mint a normál választ adó populációban (0,25 vs. 0,12, $p < 0,01$). Nem volt szignifikáns különbség az egyes betegcsoportokban az ASA kezelésre adott válaszban illetve a PIA allélek megoszlásában. Az allélgyakoriságok megfeleltek a Hardy-Weinberg szabálynak. A genotípus szerinti megoszlást a 8. táblázatban tüntettük fel.

Genotípus	ASA rezisztensek (n=119)	ASA-ra reagálók (n=166)	szignifikancia
A1/A1	68 (57 %)	126 (76 %)	
A1/A2	42 (35 %)	40 (24 %)	p < 0,05
A2/A2	9 (8 %)	0 (0 %)	p < 0,01
A2 gyakoriság	0,25	0,12	p < 0,01

8. táblázat. A PI^A genotípus megoszlása az ASA kezelésre reagáló és rezisztens egyénekből

A lineáris logisztikai regressziós analízis eredményei azt mutatják, hogy az A2 allélt tartalmazó genotípusok (A1/A2 + A2/A2) nem független rizikófaktorai az ASA rezisztenciának [OR 1,04 (0,46-2,215); 95 %-os CI mellett; p = 0,99]. A diabétesz mellitusz és az obezitás, valamint a metabolikus szindróma szignifikánsan gyakrabban fordult elő az ASA rezisztens betegcsoportban. A két betegcsoport rizikófaktorainak gyakoriságát a 9. táblázatban tüntettük fel.

Rizikófaktorok	ASA rezisztensek (n=119)	ASA-ra reagálók (n=166)	szignifikancia
Diabétesz	38 (32 %)	33 (20 %)	p < 0,01
Hipertónia	103 (87 %)	144 (87 %)	N.S.
Diszlipidémia	77 (65 %)	104 (63 %)	N.S.
Jelenleg dohányos	37 (31 %)	58 (35 %)	N.S.
Obezitás	70 (59 %)	67 (40 %)	p < 0,01

9. táblázat. Az ASA rezisztens valamint az ASA-ra megfelelő választ adó betegek rizikófaktorai

4.3. Clopidogrel kezelés hatásosság feltételezett genetikai háttérének vizsgálata

4.3.1. Betegek:

Korábban AICS-án, iszkémiás stroke-on átesett, vagy perifériás verőérbetegség miatt clopidogrel terápiában részesülő 38 clopidogrel rezisztens (21 férfi, 17 nő, átlagéletkor: 63 ± 13 év) és 59 clopidogrel kezelésre reagáló (26 férfi, 33 nő, átlagéletkor: 63 ± 11 év) betegnél meghatároztuk a P1^{A2} allél gyakoriságát. Az AICS-át és az iszkémiás stroke-ot a 4.2.1. fejezetben leírtaknak megfelelően definiáltuk.

A tanulmányt a Pécsi Tudományegyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Regionális Kutatás Etikai Bizottsága engedélyezte, a betegek részletes felvilágosítást követően írásos beleegyezésüket adták a vizsgálatba.

4.3.2. Módszerek:

4.3.2.1. P1A trombocita receptor A1/A2 polimorfizmus

Az előző fejezetben (4.1.2.2.) leírtaknak megfelelően végeztük a vizsgálatot.

4.3.2.2. Trombocita aggregáció gátlás vizsgálata

Az előző fejezetben leírtaknak megfelelően végeztük, azzal a különbséggel, hogy az adrenalin és kollagén helyett clopidogrel esetén az 50 µl ADP (5 µM és 10 µM) indukálta aggregációt vizsgáltuk.

4.3.2.3. Statisztika

A clopidogrel rezisztens és a clopidogrelre reagáló betegek eredményei közötti különbségeket χ^2 -próbával vizsgáltuk.

4.3.3. Eredmények:

Ötvenkilenc betegnél (26 férfi, 33 nő, átlagéletkor: 63 ± 10 év) észleltünk hatásos trombocita aggregáció gátlást, 38 esetben (21 férfi, 17 nő, átlagéletkor: 63 ± 12 év) a clopidogrel hatástalannak bizonyult.

A clopidogrelt egységesen 75 mg-os napi dózisban, átlagosan 58 napja szedték a betegek, a legrövidebb kezelési idő 31 nap volt.

A 10. számú táblázat mutatja az iszkémiás verőérbetegség (AICS, stroke, perifériás verőérbetegség) rizikófaktorainak előfordulását betegeinknél. A két betegcsoportban nem volt szignifikáns különbség a különböző rizikófaktorok előfordulási gyakorisága között. A betegeknél alkalmazott egyéb gyógyszeres kezelést a 10. táblázatban tüntettük fel. A clopidogrel rezisztens csoportban szignifikánsan többen kaptak ASA-t is, mint a reagáló populációban.

Rizikófaktorok	clopidogrel rezisztensek (n=38)	clopidogrelre reagálók (n=59)	szignifikancia
Diabétesz	7 (18 %)	11 (19 %)	N.S.
Hipertónia	28 (74 %)	47 (80 %)	N.S.
Diszlipidémia	16 (42 %)	26 (44 %)	N.S.
Jelenleg dohányos	16 (42 %)	16 (27 %)	N.S.
Obezitás	31 (82 %)	45 (76 %)	N.S.
ASA	19 (50 %)	18 (30 %)	$p < 0,05$
ACE gátlók	25 (66 %)	27 (46 %)	N.S.
Statinok	22 (58 %)	27 (46 %)	N.S.
Béta blokkolók	24 (63 %)	31 (53 %)	N.S.
Ca-antagonisták	19 (50 %)	19 (32 %)	N.S.
Nitrátok	12 (32 %)	16 (27 %)	N.S.
Trimetazidin	14 (37 %)	17 (29 %)	N.S.

10. táblázat. A clopidogrel kezelésre rezisztens valamint ex vivo megfelelő választ adó betegek rizikófaktorai és gyógyszeres terápiája

A clopidogrel terápiára reagálók között 45 betegnél A1/A1, 13-nál A1/A2 genotípust igazoltunk, egy beteg A2/A2 homzigóta volt. A clopidogrel rezisztens betegek között 32 A1/A1 homozigóta és 5 heterozigóta volt. A rezisztens csoportban egy betegnél a P1A allél egy ritka variánsát észleltük A1 heterozigóta formában. A P1^{A2} allél előfordulási gyakoriságában nem volt szignifikáns különbség a két betegcsoport között (11. táblázat). A ritka variáns szerepe az iszkémiás események kialakulásában nem ismert pontosan (Nádasi és mtsai., közlés alatt). Nem találtunk szignifikáns különbséget azon betegek között sem, akiknél ASA-val kombinált kezelést alkalmaztunk.

Genotípus	clopidogrel rezisztensek (n=38)	clopidogrelre reagálók (n=59)	szignifikancia
A1/A1	32 (84 %)	45 (76 %)	N.S.
A1/A2	5 (13 %)	13 (22 %)	N.S.
A2/A2	0	1 (2 %)	N.S.
A2 gyakoriság	0,09	0,13	N.S.

11. táblázat. A P1^A genotípus megoszlása a clopidogrel kezelésre reagáló és rezisztens egyénekben

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A szomorú hazai mortalitási statisztikákért napjainkban elsősorban a kardiovaszkuláris betegségek a felelősek. Ezen betegségek legsúlyosabb megjelenési formája az AICS. Az AICS kialakulásának háttérében évtizedek óta számos „klasszikus” rizikófaktort igazoltak, és napjainkban is újabb tényezőkről igazolják azoknak AICS-rizikót fokozó voltát. A számos ok mellett az utóbbi időben több genetikai mutáció szerepét is felvetették. Az irodalomban a különböző mutációk szerepének fontossága vitatott, egyes szerzők megerősítik, mások cáfolják. Az eltérő eredmények a népcsoportok közötti genetikai változékonysággal magyarázhatók. Szükségeseink tartottuk az irodalom alapján a leggyakrabban vizsgált polimorfizmusok gyakoriságának és szerepének tanulmányozását hazai AICS populációban. A mutációk közül azon polimorfizmusok vizsgálatát végeztük el, amelyeknek közvetlen klinikai relevanciája lehet.

Az AICS kialakulásában az egyik legtöbbet vizsgált mutáció a trombocita felszíni GP IIb/IIIa receptor III/a alegységének P1A polimorfizmusa. Az eredmények a legtöbb populációban alátámasztják a P1^{A2} allél esetleges szerepét az AICS kialakulásában, illetve az in-szent resztenózis háttérében. Az elméleti megfontolások szerint a polimorfizmus szerepét az AICS kialakulásában a trombociták funkciójának megváltozása okozhatja. Vizsgálataink igazolták, hogy a P1^{A2} allél jelenléte szerepet játszhat az AICS kialakulásában hazai betegekben.

Több vizsgálat igazolta, hogy az emelkedett szérumbomocisztein szint az AICS kialakulásának független rizikófaktora. Ismert, hogy a metilén tetrahidrofolát redukáz enzim génjének C677T mutációja jelentősen befolyásolja a szérumbomocisztein szintet, a kóros génre homozigóta egyéneknél a bomocisztein szint magasabb a normál

egyénekéhez képest, a heterozigótákban a kettő között van. A kóros allél gyakoriságában nem találtunk szignifikáns különbséget betegekben, de az allélt hordozók nagyobb arányban voltak jelen az AICS populációban, mint a kontroll csoportban. Az emelkedett homocisztein szint folsav adásával kezelhető, ezért az MTHFR kóros allélt hordozó betegekben – amely génről igazoltuk az AICS-val való összefüggését – megfontolandó lehet a folsav terápia bevezetését, bár a közelmúltban zárult NORVIT vizsgálat posztinfarktusos betegcsoportban a mortalitás növekedését igazolta a folsavat és B6 vitamint szedő egyéneknél (NORVIT, 2005).

Az ACE gén I/D polimorfizmusának vizsgálata során igazolást nyert, hogy a D/D homozigótákban az ACE szint kétszerese az I/I genotípusúakhoz képest, míg az I/D esetek intermedier szinttel rendelkeznek. Az emelkedett ACE szintről ismert, hogy az iszkémiás koronáriabetegség független rizikófaktora. Az ACE gátlók alkalmazása a HOPE és az EUROPA tanulmányok alapján mortalitás és morbiditás csökkentő hatású, ugyanakkor maximális dózisú ACE gátló alkalmazása mellett is kialakulhat AICS. Az előbbieket alapján felmerült, hogy a kóros D allélt hordozó, magasabb ACE szinttel rendelkező betegeknek fokozottabb az AICS kialakulásának rizikója. A korábbi vizsgálatok nem igazolták egyértelműen az ACE polimorfizmus szerepét az AICS kialakulásában. Az általunk vizsgált populációban az ACE D allél nem játszott szerepet az AICS létrejöttében.

Az instabil koronária plakk ruptúrája során gyulladásos folyamatok játszódnak le, a különböző gyulladásos proteinek között a LTA is fontos szerepet játszik. A LTA-t kódoló gén két mutációjáról (LTA1 és 3) távol-keleti populációban leírták a nagyobb gyakoriságot az AICS-án átesett betegekben, ennek alapján az AICS kezelésében esetleges immunmoduláns terápia is szóba jönné. A LTA1 polimorfizmus szerepét több európai munkacsoport is vizsgálta, azonban a LTA3 mutációját AICS-án átesett

kaukázusi rasszba tartozó egyéneken nem kutatták. Az általunk vizsgált betegcsoportban e két polimorfizmus AICS-val való összefüggését kimutatni nem tudtuk.

Az ellentmondó irodalmi adatok hazai populációra való adaptálása miatt végzett vizsgálataink egyes mutációk szerepét megerősítették, másokét cáfolták. Az eredményeink alapján a magyarországi AICS-án átesett populációban a PIA és MTHFR polimorfizmusok vizsgálata célszerű, az ACE, LTA1 és LTA3 oki szerepe nem bizonyított.

A fokozott trombocita aggregáció kulcsszerepet játszik az AICS kialakulásában. Évtizedek óta ismert, hogy az ASA adása már az AICS diagnózisának pillanatában adva javítja a betegek túlélését. Igazolt azonban, hogy a populáció 10-30 %-a nem reagál megfelelően ASA kezelésre. Eikelboom (2002) és Gum (2003), valamint munkatársaik két prospektív tanulmányban azt találták, hogy az ASA rezisztencia fokozott rizikót jelent major kardiovaszkuláris eseményekre (miokardiális infarktus és kardiovaszkuláris eredetű halál). Munkacsoportunk korábbi vizsgálatai igazolták, hogy az ismételt nemkívánatos klinikai eseményeket (kardiovaszkuláris halálozás, ismételt AICS, tranzienis iszkémiás attack vagy stroke) elszenvedett betegcsoportban szignifikánsan gyakoribb az ex vivo hatástalannak mért trombocita aggregáció gátlás, valamint ritkább a teljes gátlás azon populációhoz képest, akiknél nemkívánatos esemény nem jelentkezett. Azon betegek közel felénél, akiknél hatástalan gátlás esetén az ASA dózisának emelésére került sor, laboratóriumiilag megfelelő trombocitaaggregáció-gátló hatás kialakulása volt megfigyelhető, és szignifikánsan kevesebb nemkívánatos esemény fordult elő, mint a terápia-módosításon át nem esetteknél (Alexy és mtsai., 2003).

A GP IIb/IIIa receptor központi szerepet tölt be a trombocita aggregációban. A III/a fehérjét kódoló gén P1A polimorfizmusa (A1/A2) struktúraváltozást hoz létre a proteinben, megváltoztatva annak térbeli konformációját, és ezáltal funkcióját. Cooke és mtsai (1998) vizsgálatuk eredményei alapján felvetették annak lehetőségét, hogy a PI^{A2} allél szerepet játszhat az ASA rezisztencia kialakulásában.

Nem végeztek korábban tanulmányt a PI^{A2} allél szerepének vizsgálatára AICS-án, iszkémiás stroke-on átesett és ASA-ra nem megfelelően reagáló betegeknél. Jelen vizsgálatunkban a PI^{A2} allél hordozás nem bizonyult az ASA rezisztencia független rizikófaktorának, de eredményeink felvetik annak lehetőségét, hogy az A2/A2 homozigóta jelleg kapcsolatban lehet az ASA rezisztenciával. Azon betegeknél, akiknek $PI^{A2/A2}$ genotípusuk van javasolt ASA helyett más trombocita aggregáció gátló gyógyszer alkalmazása, lehetőség szerint olyan, amely esetében igazolható, hogy a PI^{A2} allél nem okoz terápia rezisztenciát.

A fenti eredmények alapján PI^{A2} homozigóták esetében felmerült, hogy más úton ható trombocita aggregáció gátló szerrel (pl. clopidogrel) történő kezelés hatásosabb lehet.

Az ASA non-reszponder betegek arányát a különböző munkacsoportok eltérő mértékűnek, de mindenképpen jelentősnek, mintegy 10-30 % közöttinek adják meg, a figyelem így az egyre hatékonyabb, megbízhatóbb molekulák kifejlesztése felé irányult. A tienopiridinek közül elsőként a ticlopidin került bevezetésre, mely irreverzibilisen gátolja a trombociták ADP függő funkcióit. A molekula egy másik származéka, a clopidogrel klinikai vizsgálatokban a ticlopidinnel azonos hatékonyságúnak bizonyult a primér klinikai végpontok tekintetében, továbbá súlyos mellékhatások ritkábban jelentkeznek alkalmazása során. Elsősorban perkután koronária intervención átesett betegeknél kombinálják egyre kiterjedtebben az ASA és tienopiridin készítményeket a

maximális antitrombotikus védelem elérésére, azonban ebben az esetben számolni kell a mellékhatások összeadódásával is, így pl. a vérzésem szövődmények gyakoribb előfordulásával. Azáltal, hogy korábbi vizsgálatainkkal felmerült az ASA rezisztencia és a P1A polimorfizmus közötti kapcsolat, olyan populációt tudunk kijelölni (a P1^{A2} homozigóták), akiknél az ASA rezisztencia valószínűsége szignifikánsan nagyobb, mint az átlag populációban. Amennyiben ezen populációban a clopidogrel rezisztencia nem mutat összefüggést a P1^{A2} homozigóta állapottal, jogosnak tűnik a javaslat, hogy ASA helyett clopidogrelt alkalmazzunk szekunder prevencióként.

Matetzky és mtsai (2004) igazolták, hogy AICS-án átesett betegekben a clopidogrel rezisztencia fokozott aterotrombotikus rizikóval jár. Angiolillo és mtsai (2004) 300 mg kezdő dózisú clopidogrel adását követően vizsgálták a P1A polimorfizmus és a trombocita aggregáció gátlás hatékonysága közötti összefüggést, és azt igazolták, hogy a P1^{A2} hordozók esetén a trombocita aggregáció gátlás gyengébb volt. Ismereteink szerint korábban nem vizsgálták a hosszú távú clopidogrel adagolást követő clopidogrel rezisztencia és a P1A polimorfizmus közötti összefüggést. Eredményeink arra utalnak, hogy a clopidogrel trombocita aggregáció gátló hatása nem különbözik az egyes P1A genetikai variánsokban. Tekintettel arra, hogy korábban igazoltuk a P1^{A2} allél és az ASA rezisztencia közötti összefüggést, a P1^{A2} homozigóta betegekben az ADP receptor antagonizmuson alapuló, clopidogrellel történő trombocita aggregáció gátlás előnyösebb lehet az ASA-nál.

Eredményeinket összefoglalva elmondhatjuk, hogy az AICS kialakulásának háttérében egyes genetikai mutációk szerepet játszhatnak. A hazai populáció genomja más nemzetek génállományától eltérő, ezért a nemzetközi irodalomban leírt mutációk magyarországi vizsgálata is szükséges. A P1^{A2} allél jelenléte, de főként a P1^{A2} homozigóta állapot összefüggést mutat az ASA rezisztenciával, ezt a korrelációt

azonban clopidogrel rezisztencia esetén kimutatni nem tudtuk. A fentiek alapján megfontolandónak tartjuk a P1^{A2} homozigóta betegek clopidogrellel történő kezelését.

6. AZ ÉRTEKEZÉSBŐL LEVONHATÓ MEGÁLLAPÍTÁSOK ÉS AZOK GYAKORLATI JELENTŐSÉGE

1. Vizsgálatainkkal elsőként igazoltuk azt a feltevést, hogy a PIA polimorfizmusnak illetve a PI^{A2} allélnak oki szerepe lehet az AICS kialakulásában magyarországi populációban.
2. A MTHFR polimorfizmus szerepet játszhat az AICS kialakulásában.
3. Nem találtunk összefüggést az AICS kialakulása valamint az ACE polimorfizmus között.
4. Elsőként vizsgáltuk kaukázusi rasszba tartozó egyéneknél a LTA3 polimorfizmus és az AICS kapcsolatát. Nem volt oki kapcsolat sem a LTA1, sem a LTA3 polimorfizmus és az AICS között.
5. Vizsgálataink azt sugalmazzák, hogy AICS esetén a genetikai vizsgálatok elsősorban PIA és MTHFR polimorfizmus irányában történjenek, az ACE, LTA1 és LTA3 mutációknak nincs oki szerepe a hazai populációban.
6. Összefüggést találtunk a PI^{A2} allél jelenléte és az ASA rezisztencia között.
7. Nem találtunk kapcsolatot a clopidogrel rezisztencia és a PIA polimorfizmus között.
8. Vizsgálatunk alapján az iszkémiás eseményen átesett betegnél javasolt a PIA polimorfizmus vizsgálata, PI^{A2} hordozás esetén ASA helyett clopidogrellel történő szekunder prevenció kezeltés elkezdése.
9. A clopidogrel rezisztencia genetikai hátterének tisztázására további vizsgálatokra van szükség.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet szeretnék mondani program- és témavezetőmnek, Dr. Tóth Kálmán professzornak, aki lehetőséget adott kutatásaim végrehajtásához és munkám során támogatott, segítséggel és hasznos tanácsokkal látott el.

Hálával tartozom a genetikai vizsgálatokért, a kiemelkedő szakmai támogatásért és a hasznos útmutatásokért Prof. Dr. Melegh Bélának az Orvosi Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézet helyettes vezetőjének.

Dr. Czopf Lászlónak és Dr. Habon Tamásnak munkám klinikai részének támogatása mellett mindenkori őszinte baráti támogatását is köszönöm.

Köszönetemet fejezem ki Berenténé Bene Juditnak, Dr. Havasi Viktóriának és Dr. Komlósi Katalinnak, akik kutatási tervem genetikai részének megvalósításához nyújtottak jelentős segítséget. A statisztikai elemzésekben nyújtott segítségért hálával tartozom Dr. Juricskay Istvánnak és Szabó Leventének. Munkám klinikai és reológiai részének lebonyolításában Dr. Márton Zsolttól, Dr. Alexy Tamástól, Dr. Késmárky Gábortól, Dr. Horváth Beátától, Dr. Fehér Csabától, Dr. Fehér Gergelytől, Dr. Magyar Évától és Dr. Kovács Lászlótól kaptam a legtöbb segítséget. A neurológiai betegeken végzett vizsgálatokban nyújtott segítségéért Dr. Szapáry Lászlónak tartozom köszönettel. Nagy Lászlóné és Pavlikné Rigler Klára asszisztensnőknek, a Kardiológiai Munkacsoport többi asszisztensnőinek és az I.sz. Belgyógyászati Klinika Kardiológiai Osztály nővéreinek a munka technikai lebonyolításáért mondok köszönetet.

A munkához szükséges nyugodt háttér megteremtéséért családomnak, elsősorban feleségemnek, Dr. Gasztonyi Beátának tartozom hálával, aki ösztönzött, segített, támogatott a PhD. munkám megírásában.

8. IRODALOM

Adams M, Smith PD, Martin D, Thompson JR, Lodwick D, Samani NJ. Genetic analysis of thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for myocardial infarction. *Q J Med.* 1996; 89(6): 437-444.

Alexy T, Stef Gy, Márton Zs, Horváth B, Koltai K, Pálfi A, Fehér G, Bócsa Z, Pusch G, Szapáry L, Késmárky G, Veress G, Tóth K. A rutinszerűen alkalmazott trombocitaaggregáció-gátló kezelés hatékonyságának felmérése érbetegekben. *Kardiológus.* 2003; 2: 5-24.

Amant C, Bauters C, Bodart JC, Lablanche JM, Grollier G, Danchin N, Hamon M, Richard F, Helbecque N, McFadden EP, Amouyel P, Bertrand ME. D allele of the angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting. *Circulation.* 1997; 96(1): 56-60.

Andrioli G, Minuz P, Solero P, Pincelli S, Ortolani R, Lussignoli S., Bellavite P. Defective platelet response to arachidonic acid and thromboxane A₂ in subjects with PI(A₂) polymorphism of beta(3) subunit (glycoprotein IIIa). *Br J Haematol.* 2000; 110: 911-918.

Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Sabate M, Fernandez C, Stranieri C, Trabetti E, Pignatti PF, Macaya C. PIA polymorphism and platelet reactivity following clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stent implantation. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2004; 15: 89-93.

Aspirin Trialists' Collaboration. Secondary prevention of vascular disease by prolonged antiplatelet treatment. *Br Med J.* 1988; 296: 320-331.

Bayer AG: Pharmacokinetics. Absorption. In: Aspirin enteric coated. Antiplatelet therapy with acetylsalicylic acid. Bayer AG. 1999; 39.

Bertrand ME, Simoons ML, Fox KA, Wallentin LC, Hamm CW, McFadden E, De Feyter PJ, Specchia G, Ruzylo W. Task Force on the Management of Acute Coronary Syndromes of the European Society of Cardiology. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The Task Force on the Management of Acute Coronary Syndromes of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2002; 23: 1809-1840.

Bhatt DL, Bertrand ME, Berger PB, L'Allier PL, Moussa I, Moses JW, Dangas G, Taniuchi M, Lasala JM, Holmes DR, Ellis SG, Topol EJ. Meta-analysis of randomized and registry comparisons of ticlopidine with clopidogrel after stenting. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39: 9-14.

Bohn M, Berge KE, Bakken A, Erikssen J, Berg K. Insertion/deletion (I/D) polymorphism at the locus for angiotensin I-converting enzyme and myocardial infarction. *Clin Genet.* 1993; 44(6): 292-297.

Born GVR, Cross MJ. The aggregation of blood platelets. *J Physiol.* 1963; 168: 178-195.

Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA*. 1995; 274(13): 1049-1057.

Buchanan MR, Brister SJ. Individual variation in the effects of ASA on platelet function: Implications for the use of ASA clinically. *Can J Cardiol*. 1995; 11: 221-227.

Buchanan MR, Butt RW, Hirsh J, Markham BA, Nazir DJ: Role of lipoxigenase metabolism in platelet function: effects of aspirin and salicylate. *Prostaglandins Leukot Med*. 1986; 21: 157-168.

Burch JW, Stanford N, Majerus RW. Inhibition of platelet prostaglandin synthetase by oral aspirin. *J Clin Invest*. 1978; 61: 314-319.

Cambien F, Alhenc-Gelas F, Herbeth B, Andre JL, Rakotovo R, Gonzales MF, Allegrini J, Bloch C. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy Study. *Am J Hum Genet*. 1988; 43(5): 774-780.

Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S, Tiret L, Amouyel P, Alhenc-Gelas F, Soubrier F. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*. 1992; 359: 641-644.

Chiabrando C, Rivoltella L, Martelli L, Valzacchi S, Fanelli R. Urinary excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites during low dose aspirin: evidence for an

extrarenal origin of urinary TxB₂ and 6-keto prostaglandin F₁ in healthy subjects. *Biochem Biophys Acta*. 1992; 1133: 247-254.

Cimminiello C, Toschi V. Atherothrombosis: the role of platelets. *Eur Heart J*. 1999; 1(Suppl. A): 8-13.

Cooke GE, Bray PF, Hamlington JD, Pham DM, Goldschmidt-Clermont PJ. PLA2 polymorphism and efficacy of aspirin. *Lancet*. 1998; 351: 1253.

DeGraba TJ. Expression of inflammatory mediators and adhesion molecules in human atherosclerotic plaque. *Neurology*. 1997; 49: S515–S519.

Dotewall G, Ekenved G. The absorption of aspirin from the stomach in relation to intragastric pH. *Scand J Gastroent*. 1976; 11: 801-805.

Doutsemepuich C, de Seze O, Leroy D. Aspirin at very ultralow dosage in healthy volunteers. Effects on bleeding time, platelet aggregation and coagulation. *Haemost*. 1990; 20: 99-105.

Durante-Mangoni E, Davies GJ, Ahmed N, Ruggiero G, Tuddenham EG. Coronary thrombosis and the platelet glycoprotein IIIa gene PLA2 polymorphism. *Thromb Haemost*. 1998; 80: 218-219.

Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or

cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation*. 2002; 105: 1650-1655.

Elwood PC, Cochrane AL, Burr ML, Sweetnam PM, Williams G, Welsby E, Hughes SJ, Renton R. A randomised controlled trial of ASA in the secondary prevention of mortality from myocardial infarction. *Br Med J*. 1974; 1: 436-440.

Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, O'Donnell CJ, Lipinska I, Sutherland PA, Mittleman M, Muller JE, D'Agostino RB, Levy D, Tofler GH. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa PLA2 polymorphism: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19: 1142-1147.

Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995; 10(1): 111-113.

Fusegawa Y, Handa S. Platelet aggregation induced by ADP or epinephrine is enhanced in habitual smokers. *Thromb Res*. 2000; 97: 287-295.

Fuster W, Bowie EJ, Lewis JC, Fass DN, Owen CA Jr, Brown AL. Resistance to atherosclerosis in pigs with von Willebrand disease: spontaneous and high cholesterol diet-induced arteriosclerosis. *J Clin Invest*. 1978; 61: 722-730.

Fuster V, Fass DN, Kaye MP, Josa M, Zinsmeister AR, Bowie EJ. Atherosclerosis in

normal and von Willebrand pigs: long term prospective study and aortic transplantation study. *Circulation Res.* 1982; 51: 587-593.

Fuster V, Griggs TR. Porcine von Willebrand disease: implications for the pathophysiology of atherosclerosis and thrombosis. *Prog Haemostat Thromb.* 1986; 8: 159-183.

Gallagher PM, Meleady R, Shields DC, Tan KS, McMaster D, Rozen R, Evans A, Graham IM, Whitehead AS. Homocysteine and risk of premature coronary heart disease. Evidence for a common gene mutation. *Circulation.* 1996; 94(9): 2154-2158.

Gardemann A, Humme J, Stricker J, Nguyen QD, Katz N, Philipp M, Tillmanns H, Hehrlein FW, Rau M, Haberbosch W. Association of the platelet glycoprotein IIIa P1A1/A2 gene polymorphism to coronary artery disease but not to nonfatal myocardial infarction in low risk patients. *Thromb Haemost.* 1998; 80: 214-217.

Gibbons GH, Dzau VJ. Mechanisms of disease: The emerging concept of vascular remodelling. *N Engl J Med.* 1994; 330: 1431-1438.

Goldschmidt-Clermont PJ, Roos CM, Cooke GE. Platelet P1A2 polymorphism and thromboembolic events: from inherited risk to pharmacogenetics. Review. *J Thromb Thrombolysis.* 1999; 8: 89-103.

Grotmeyer KH. Effects of acetylsalicylic acid in stroke patients. Evidence of nonresponders in a subpopulation of treated patients. *Thromb Res.* 1991; 63: 587-593.

Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 41: 961-965.

Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation.* 2003; 107: 2908-2913.

Gurbel PA, Samara WM, Bliden KP. Failure of clopidogrel to reduce platelet reactivity and activation following standard dosing in elective stenting: implications for thrombotic events and restenosis. *Platelets.* 2004; 15: 95-99.

Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL, Brace LD. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke.* 1994; 25: 2331-2336.

Helgason CM, Tortorice KL, Winkler SR, Penney DW, Schuler JJ, McClelland TJ, Brace LD. Aspirin response and failure in cerebral infarction. *Stroke.* 1993; 24: 345-350.

Herrmann SM, Ricard S, Nicaud V, Brand E, Behague I, Blanc H, Ruidavets JB, Evans A, Arveiler D, Luc G, Poirier O, Cambien F. The Leu33/Pro polymorphism (PIA1/PIA2) of the glycoprotein IIIa (GPIIIa) receptor is not related to myocardial infarction in the ECTIM Study. *Etude Cas-Temoins de l'Infarctus du Myocarde. Thromb Haemost.* 1997; 77: 1179-1181.

Horváth B, Koltai K, Fehér G, Szapáry L, Márton Zs, Alexy T, Késmárky G., Tóth K. A trombocita aggregáció gátló terápia laboratóriumiilag mérhető hatékonysága és a nemkívánatos klinikai események gyakorisága közötti összefüggés vizsgálata. *Card Hung.* 2004; 34: C54.

ISIS-2 Collaborative Groupe. Randomised trial of i.v. Streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. *Lancet.* 1988; 2: 349-360.

Iwanaga Y, Ono K, Takagi S, Terashima M, Tsutsumi Y, Mannami T, Yasui N, Goto Y, Nonogi H, Iwai N. Association analysis between polymorphisms of the lymphotoxin- α gene and myocardial infarction in a Japanese population. *Atherosclerosis.* 2004; 172: 197–198.

Izumi M, Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Shimoike H, Kinoshita M. Molecular variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase is a risk factor of ischemic heart disease in the Japanese population. *Atherosclerosis.* 1996; 121(2): 293-294.

Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R. Relation Between Folate Status, a Common Mutation in Methylenetetrahydrofolate Reductase, and Plasma Homocysteine Concentrations. *Circulation.* 1996; 93: 7-9.

Jeunemaitre X, Ledru F, Battaglia S, Guilanneuf MT, Courbon D, Dumont C, Darmon O, Guize L, Guermonprez JL, Diebold B, Ducimetiere P. Genetic polymorphisms of the

renin-angiotensin system and angiographic extent and severity of coronary artery disease: the CORGENE study. *Hum Genet.* 1997; 99(1): 66-73.

Jimirez AH, Stubbs ME, Tofler GH. Rapid suppression of platelet aggregability and thromboxane production after chewed enteric-coated aspirin. *Circulation.* 1989; 80(Suppl. 2): II. 352. Abstr.

Káli A, Vértes A, Tonelli M. *Endothelszerv. Szívkontroll*, Budapest, 1999.

Káli A. Az endothel-diszfunkció klinikai vizsgálata. *Cardioscan.* 1997; 2-3: 35-36.

Káli A. Az erek működésének új szemlélete. *Háziorvosi Továbbképző Szemle.* 1997; 2: 192-193.

Káli A. Célszervi szövődmények, remodeling jelenség. *Háziorvosi Továbbképző Szemle.* 1997; 2: 6-8.

Káli A. Vascularis protectio. Az atherosclerosis gyógyszeres kezelése. *Cardioscan.* 1997; 2: 21-23.

Kang SS, Zhou J, Wong PW, Kowalysyn J, Strokosch G. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet.* 1988; 43(4): 414-421.

Keavney B, McKenzie C, Parish S, Palmer A, Clark S, Youngman L, Delepine M, Lathrop M, Peto R, Collins R. Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000 controls. International Studies of Infarct Survival (ISIS) Collaborators. *Lancet*. 2000; 355: 434–442.

Keltai M, Bodor E, Jánosi A, Kiss RG, Molnár F. Az akut coronaria szindróma ST-elevációval nem járó formáinak diagnosztikája és kezelése. *Kardiológiai útmutató*. 2004; 48-61.

Késmárky G, Tóth K, Vajda G, Habon L, Halmosi R, Róth E. Hemorheological and oxygen free radical associated alterations during and after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2001; 24: 33-41.

Késmárky G, Márton Zs, Horváth B, Alexy T, Koltai K, Szapáry L, Tóth K. Examination of the effectiveness of antiplatelet therapy in vascular patients. *Eur Heart J*, 2003; 24 (Abstract Suppl.): 370.

Keso T, Perola M, Laippala P, Ilveskoski E, Kunnas TA, Mikkelsen J, Penttila A, Hurme M, Karhunen PJ. Polymorphisms within the tumor necrosis factor locus and prevalence of coronary artery disease in middle-aged men. *Atherosclerosis*. 2001; 154: 691–697.

Kiechle FL. DNA technology, the clinical laboratory, and the future. Review. *Arch Pathol Lab Med*. 2001; 125: 72-76.

Kiss RG. A thrombocytá glycoprotein IIb/IIIa békítók hatásmechanizmusa. TAO. 1999; Suppl. 2A: 13-24.

Kluijtmans LA, Kastelein JJ, Lindemans J, Boers GH, Heil SG, Bruschke AV, Jukema JW, van den Heuvel LP, Trijbels FJ, Boerma GJ, Verheugt FW, Willems F, Blom HJ. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation*. 1997; 96(8): 2573-2577.

Koch W, Kastrati A, Bottiger C, Mehilli J, von Beckerath N, Schomig A. Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2001; 159(1): 137-144.

Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, Frosst P, Selhub J, Horsford J, Malinow MR, Willett WC, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation*. 1996; 94(10): 2410-2416.

Mamotte CD, van Bockxmeer FM, Taylor RR. PIA1/A2 polymorphism of glycoprotein IIIa and risk of coronary artery disease and restenosis following coronary angioplasty. *Am J Cardiol*. 1998; 82: 13-16.

Mann CC, Plummer ML. The aspirin wars: money, medicine and 100 years of rampant competition. A.A. Knopp Inc. New York 1991.

Marton Zs, Horvath B, Alexy T, Kesmarky G, Czopf L, Habon T, Kovacs L, Papp E, Halmosi R, Mezey B, Roth E, Toth K. Follow-up of hemorheological parameters and platelet aggregation in patients with acute coronary syndromes. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 29, 81-94, 2003.

Maseri A. Inflammation, atherosclerosis, and ischemic events – exploring the hidden side of the moon. *N Engl J Med.* 1997; 336: 1014-1016.

Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Bienart R, Goldenberg I, Novikov I, Pres H, Savion N, Varon D, Hod H. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2004; 109: 3171-3175.

Mehta SR, Yusuf S. Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) Study Investigators. The Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) trial programme; rationale, design and baseline characteristics including a meta-analysis of the effects of thienopyridines in vascular disease. *Eur Heart J.* 2000; 21(24): 2033-2041.

Muller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost.* 2003; 89: 783-787.

Nadas E, Bene J, Havasi V, Komlosi K, Talian G, Melegh Gy, Papp E, Gasztonyi B, Szolnoki Z, Mozsik Gy, Ember I, Toth K, Melegh B, Wittmann I. Detection of

Leu40Arg variant of platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in subjects with thrombotic diseases. *Thromb Res.* 2005, in press

NORVIT (speaker: Bona KH): Randomised trial of homocysteine-lowering with B-vitamins for secondary prevention of cardiovascular disease after acute myocardial infarction. ESC Congress 2005, Hotline Session

Nurden. Polymorphisms of human platelet membrane glycoproteins. Structure and clinical significance. *Thromb Haemost.* 1995; 74: 345-351.

O'Brien JR. Effects of salicylates on human platelets. *Lancet.* 1968; 1: 779-783.

Ofner P. Atherosclerosis, thrombusképződés, thrombocytáaggregáció-gátló kezelés. *TAO.* 1999; Suppl. 2A: 5-12.

Ohishi M, Fujii K, Minamino T, Higaki J, Kamitani A, Rakugi H, Zhao Y, Mikani H, Miki T, Ogihara T. A potent genetic risk factor for restenosis. *Nat Genet.* 1993; 5: 324-325.

Oike Y, Hata A, Ogata Y, Numata Y, Shido K, Kondo K. Angiotensin converting enzyme as a genetic risk factor for coronary artery spasm. Implication in the pathogenesis of myocardial infarction. *J Clin Invest.* 1995; 96: 2975-2979.

Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, Sekine A, Yamada R, Tsunoda T, Sato H, Sato H, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are

associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet.* 2002; 32(4): 650-654.

Padovani JC, Pazin-Filho A, Simoes MV, Marin-Neto JA, Zago MA, Franco RF. Gene polymorphisms in the TNF locus and the risk of myocardial infarction. *Thromb Res.* 2000; 100(4): 263-269.

Patrono C. Aspirin and human platelets: from clinical trials to acetylation of cyclooxygenase and back. *Trends Pharmacol Sci.* 1989; 10: 453-458.

Patrignani R, Filabozzi R, Patrono C. Selective cumulative inhibition of platelet thromboxane production by low-dose aspirin in healthy subjects. *J Clin Invest.* 1982; 69: 1366-1372.

Poggio ED, Kottke-Merchant K, Welsh RA, Topol EJ. The prevalence of aspirin resistance in cardiac patients as measured by platelet aggregation and PFA 100. *J Am Coll Cardiol.* 1999; 33 (Suppl. A): 254.

Pongrácz E, Bauer E, Bernát S. ASA non-responsio vizsgálata, az Ipaton filmtablettával szerzett tapasztalatok. *Novitates.* 2002; 1: 15-23.

Quinn MJ, Topol EJ. Common variations in platelet glycoproteins: pharmacogenomic implications. *Pharmacogenomics.* 2001; 2: 341-352.

Ranke C, Hecker A, Crentzig A., Alexander K. Dose dependent effects of aspirin on carotid atherosclerosis. *Circulation*. 1993; 87: 1873-1879.

Renaud SC, Ruf J. Effects of alcohol on platelet functions. *Clin Chim Acta* 1996; 246: 77-89.

Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An Insertion/Deletion Polymorphism in the Angiotensin I-converting Enzyme Gene Accounting for Half the Variance of Serum Enzyme Levels. *J Clin Invest*. 1990; 86: 1343-1346.

RISC Group. Risk of myocardial infarction and death during treatment with low dose aspirin and intravenous heparin in men with unstable coronary artery disease. *Lancet*. 1990; 336: 827-830.

Robertson RM., Robertson D, Robert LJ. Thromboxane in vasotonic angina pectoris: evidence from direct measurements and inhibitor trials. *N Engl J Med*. 1981; 304: 998-1003.

Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999; 340: 115–126.

Roth GJ, Siok CJ. Acetylation of the NH₂ terminal serine of prostaglandin synthetase by aspirin. *J Biol Chem*. 1978; 253: 3782-3784.

Roux S, Cristeller S, Ludin E. Effects of aspirin on coronary reocclusion and recurrent

ischaemia after thrombolysis: A metaanalysis. *J Am Coll Cardiol.* 1992; 19: 671-676.

Rowland M, Riegelman S, Harris RA, Sholkoff SD. Absorption kinetics of aspirin in man following oral administration of an aqueous solution. *J Pharmacol Sci.* 1972; 61: 379-385.

Saltiel E, Ward A. Ticlopidine: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in platelet dependent disease states. *Drugs.* 1987; 34: 222-226.

Samani NJ, Lodwick D. Glycoprotein IIIa polymorphism and risk of myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 1997; 33: 693-697.

Samani NJ, Martin DS, Brack M, Cullen J, Chauhan A, Lodwick D, Harley A, Swales JD, de Bono DP, Gershlick AH. Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and risk of restenosis after coronary angioplasty. *Lancet.* 1995; 345: 1013-1016.

Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, Channer K, Woods KL. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation.* 1996; 94: 708-712.

Schrör K. Aspirin. Thieme, Stuttgart - New York 1992.

Selwyn AP, Kinlay S, Ganz P. Atherogenesis and ischemic heart disease. *Am J Cardiol.* 1997; 80: 3-7.

Singer DJ, Missouris CG, Jeffery S. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism. What to do about all the confusion? *Circulation.* 1996; 94: 236-239.

Singer R. Acetylsalicylic acid, probable cause for secondary, posttonsillectomy hemorrhage. Preliminary report. *Arch Otolaryng.* 1945; 42: 19.

Smith JH, Willis AL. Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature (New Biol.).* 1971; 231: 235-237.

Smith JM, Mackinnon J. Aetiology of aspirin bleeding. *Lancet.* 1951; 2: 569-570.

Smith WL, Marnett LJ, DeWitt DL. Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmac Ther.* 1991; 49: 153-179.

Soffer D, Moussa I, Harjai KJ, Boura JA, Dixon SR, Grines CL, O'Neill WW, Roubin GS, Moses JW. Impact of angina class on inhibition of platelet aggregation following clopidogrel loading in patients undergoing coronary intervention: do we need more aggressive dosing regimens in unstable angina? *Catheter Cardiovasc Interv.* 2003; 59: 21-25.

Steinhubl SR, Berger PB, Mann JT, Fry ET, DeLago A, Wilmer C, Topol EJ; for the CREDO Investigators. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention. *JAMA.* 2002; 288: 2411-2420.

Szczeklik A, Undas A, Sanak M, Frolow M, Wegrzyn W. Relationship between bleeding time, aspirin and the P1A1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa. *Br J Haematol.* 2000; 110: 965-967.

Szolnoki Z, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Bene J, Havasi V, Komlósi K, Melegh B. Increased prevalence of platelet glycoprotein IIb/IIIa P1A2 allele in ischaemic stroke associated with large vessel pathology. *Thromb Res.* 2003; 109: 265-269.

Tarján J, Salamon A, Jáger R, Poor F, Barczy V, Dinnyés J, Hamvas J, Kinczel A, Pál A, Blasko G. Az acetilszalicilsav nonresponderek gyakorisága akut coronaria szindróma miatt kórházba felvett, megelőzően acetilszalicilsav szekunder preventív kezelésben részesült betegek körében. *Orv Hetil.* 1999; 140: 2339-2343.

Tarján J, Salamon A, Jáger R, Poor F, Barczy V, Dinnyés J, Hamvas J, Kinczel A, Pál A, Blasko G. Az acetilszalicilsav nonresponderek gyakorisága thrombocytá aggregatio vizsgálata alapján. *Novitates.* 2002; 2: 1-4.

The CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet.* 1996; 348: 1329-1339.

Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F, Soubrier F. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-

converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet.* 1992; 51(1): 197-205.

van Bockxmeer FM, Mamotte CD, Burke V, Taylor RR. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and premature coronary heart disease. *Clin Sci.* 2000; 99(3): 247-251.

Vanags D, Rodgers SE, Lloyd JV, Bochner F. The antiplatelet effect of daily low dose enteric coated aspirin in man - a time course of onset and recovery. *Thromb Res.* 1990; 59: 995-1005.

Vane JR. Inhibition of prostaglandin biosynthesis as a mechanism of action for aspirin like drugs. *Nature.* 1971; 231: 232-235.

Warzocha K, Ribeiro P, Bienvenu J, Roy P, Charlot C, Rigal D, Coiffier B, Salles G. Genetic polymorphisms in the tumor necrosis factor locus influence non-Hodgkin's lymphoma outcome. *Blood.* 1998; 91: 3574–3581.

Weber AA, Reimann S, Schror K. Specific inhibition of ADP-induced platelet aggregation by clopidogrel in vitro. *Br J Pharmacol.* 1999; 126: 415-420.

Weber AA, Zimmermann KC, Kirchratt JM, Schror K. Cyclooxygenase-2 in human platelets as a possible factor in aspirin resistance. *Lancet.* 1999; 353: 900.

Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, Weiss JL, Gerstenblith G, Goldschmidt-Clermont PJ. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med.* 1996; 334: 1090-1094.

Weiss HJ, Aledort LM, Kochwa S. The effect of salicylates on the haemostatic properties of platelets in man. *J Clin Invest.* 1968; 47: 2169-2180.

Williams FM, Ferner RE, Graham M, Blain PG, Alberti KG, Rawlins MD. The metabolic effects of aspirin in fasting and fed subjects: relevance to the aetiology of Reye's syndrome. *Eur J Clin Pharmacol.* 1990; 38: 519-521.

Wising R. Haematuria, hypoprothrombinaemia and salicylate medication. *Act Med Scand.* 1952; 141: 256-261.

World Health Organization. *The World Health Report: conquering, suffering, enriching humanity.* Geneva, World Health Organization 1997.

World Health Organization. *World Health Statistics Annual 1995* Geneva: World Health organization 1996; (B): 800-818.

Yamada A, Ichihara S, Murase Y, Kato T, Izawa H, Nagata K, Murohara T, Yamada Y, Yokota M. Lack of association of polymorphisms of the lymphotoxin a gene with myocardial infarction in Japanese. *J Mol Med.* 2004; 82: 477–483.

Yin Y, Dietz HC, Nurden A, Bray PF. Single-strand conformation polymorphism analysis is a rapid and effective method for the identification of mutations and polymorphisms in the gene for glycoprotein IIIa. *Blood*. 1993; 82: 2281-2288.

Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med*. 2001; 345: 494-502.

TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

1. **PAPP, E.**, HAVASI, V., BENE, J., KOMLOSI, K., CZOPF, L., MAGYAR, E., FEHER, CS., FEHER, G., HORVATH, B., MARTON, ZS., ALEXY, T., HABON, T., SZABO, L., TOTH, K., MELEGH, B. Glycoprotein IIIa gene (PI^A) polymorphism and acetylsalicylic acid resistance: is there any correlation? *Annals Pharmacother.*, 39, 1013-1018, 2005.
Impact factor: 1,739
2. **PAPP E.**, BENE J., HAVASI V., KOMLÓSI K., CZOPF L., MAGYAR É., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., ALEXY T., FEHÉR CS., HABON T., SZABÓ L., TÓTH K., MELEGH B. Van-e összefüggés a PI^A polimorfizmus és acetilszalicilsav rezisztencia között? *Card. Hung.*, 35, 7-10, 2005.
3. NADASI, E., BENE, J., HAVASI, V., KOMLOSI, K., TALIAN, G., MELEGH, GY., **PAPP, E.**, GASZTONYI, B., SZOLNOKI, Z., MOZSIK, GY., EMBER, I., TOTH, K., MELEGH, B., WITTMANN, I. Detection of Leu40Arg variant of platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in subjects with thrombotic diseases. *Thromb Res.*, 2005, közlésre elfogadva.
Impact factor: 1,541
4. **PAPP E.**, HAVASI V., BENE J., KOMLOSI K., TALIAN G., SZAPARY L., CZOPF L., FEHER CS., FEHER G., HORVATH B., MARTON ZS., HABON T., MELEGH B., TOTH K. Does glycoprotein IIIa gene (PI^A) polymorphism influence the clopidogrel resistance? 2005, *Brit J Clin Pharmacol.* közlés alatt.
Impact factor: 2,546

Egyéb közlemények:

Könyvfejezet:

1. **PAPP E.**, KÉSMÁRKY G., TÓTH K. Restenosis. In: Atherosclerosis, Ed.: Császár A., Synergo, 179-184, 2004.

Teljes közlemények:

1. **PAPP E.**, CZOPF L., HORVÁTH I., TÓTH K., JURICKSKAY I., MÓZSIK GY. Dipyridamol acut cardiovascularis hatásainak vizsgálata impedancia kardiographiával. Magyar Belorv. Arch., 52, 93-98, 1999.
2. TOTH, K., KESMARKY, G., VEKASI, J., NEMES, J., CZOPF, L., KAPRONCZAY, P., HALMOSI, R., **PAPP, E.**, JURICKSKAY, I. Hemorheological and hemodynamic parameters in patients with essential hypertension and their modification by alpha-1 inhibitor drug treatment. Clin. Hemorheol. Microcirc., 21, 209-216, 1999.
Impact factor: 0,395
3. **PAPP, E.**, CZOPF, L., MARTON, ZS., JURICKSKAY, I., TOTH, K. Acute hemodynamic changes following intravenous administration of dipyridamole - An impedance cardiographic approach. (reviewed research letter) J. Nucl. Cardiol., 8, 716, 2001.
Impact factor: 1,868

4. MARTON, ZS., HORVATH, B., ALEXY, T., KESMARKY, G., CZOPF, L., HABON, T., KOVACS, L., **PAPP, E.**, HALMOSI, R., MEZEY, B., ROTH, E. and TOTH, K. Follow-up of hemorheological parameters and platelet aggregation in patients with acute coronary syndromes. Clin. Hemorheol. Microcirc., 29, 81-94, 2003.
Impact factor: 0,833
5. **PAPP E.**, CZOPF L., HABON T., KOVÁCS L., HALMOSI R., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., TAHIN T., KOMÓCSY A., HORVÁTH I., MELEGH B., TÓTH K. Drog indukálta fiatalkori myocardialis infarctus. Esetbemutató. Magyar Belorv. Arch., 56, 175-182, 2003.
6. **PAPP E.**, SZABADOS E., TÓTH K. Az EUROPA vizsgálat klinikai jelentősége. Card. Hung., 33, 59-63, 2003.
7. **PAPP E.**, SZABADOS E., TÓTH K. Az EUROPA vizsgálat menete és eredményei. Háziórv. Továbbképző Szemle, 8, 798-801, 2003.
8. **PAPP E.**, SZABADOS E., TÓTH K. Iszkémiás szívbetegség - ACE gátló minden betegnek? Med. Anonym., 12, 7-8, 2003.
9. KOMLOSI, K., HAVASI, V., BENE, J., GHOSH, M., SZOLNOKI, Z., MELEGH, G., NAGY, A., STANKOVICS, J., CSASZAR, A., **PAPP, E.**, GASZTONYI, B., TOTH, K., MOZSIK, G., ROMICS, L., TEN CATE, H., SMITS, P., MEHES, K., KOSZTOLANYI, G., MELEGH, B. Search for factor

V Arg306 Cambridge and Hong Kong mutations in mixed Hungarian population samples. *Acta Haematol. (Basel)*, 110, 220-222, 2003.

Impact factor: 1,874

10. **PAPP, E.**, CZOPF, L., HABON, T., HALMOSI, R., HORVATH, B., MARTON, ZS., TAHIN, T., KOMOCSI, A., HORVATH, I., MELEGH, B., TOTH, K. Drug-induced myocardial infarction in young patients. Report of two cases. *Int. J. Cardiol.*, 98, 169-170, 2005.

Impact factor: 2,095

11. TÓTH K., **PAPP E.**, SZABADOS E. Az EUROPA vizsgálat menete és eredményei. *Card. Hung. Suppl. B*, 34, 2-5, 2004.

12. **PAPP, E.**, KESZTHELYI, ZS., KALMAR, N. K., PAPP, L., WENINGER, CS., TORNOCZKY, T., KALMAN, E., TOTH, K., HABON, T. Pulmonary embolisation as primary manifestation of hepatocellular carcinoma with intracardiac penetration: A case report. *World J Gastroenterol.*, 11, 2357-2359, 2005.

Impact factor: 3,318

13. MÓZSIK, GY., RUMI, GY., DÖMÖTÖR, A., FIGLER, M., GASZTONYI, B., **PAPP, E.**, PÁR, A., PÁR, G., BELÁGYI, J., MATUS, Z., MELEGH, B. Involvement of serum retinoids and activated protein C in patients with oesophageal, gastric, liver, pancreatic and colorectal cancers in Hungary. *World J Gastroenterol. közlés alatt.*

Impact factor: 3,318

Előadáskivonatok:

1. **PAPP E.**, KÉSMÁRKY G., CZOPF L., HALMOSI R., HORVÁTH I., TÓTH K., CZOPF J., MÓZSIK GY. Diabeteses neuropathiás betegek cold pressor tesztre adott válaszának mérése és elemzése impedancia-kardiográffal. XXXVII. Magyar Belgyógyász Nagygyűlés, 1998. november 19-21., Budapest, Magyar Belorv. Arch. Suppl. 3/98, 287-88, 1998.
2. MARTON, ZS., KESMARKY, G., CSER, A., RUSSAI, R., **PAPP, E.**, JURICKSKAY, I., HARDEMAN, M., TOTH, K., MOZSIK, GY. Comparison of hemorheological measurements in capillary viscosimeter, Myrenne aggregometer and LORCA aggregometer. Biorheol., 36, 167, 1999.
3. MÁRTON ZS., KÉSMÁRKY G., VÉKÁSI J., **PAPP E.**, RUSSAI R., CSER A., JURICKSKAY I., TÓTH K. Haemorheologiai faktorok változásai ischaemiás szívbetegségben, hypertóniában és diabetes mellitusban. Magyar Kardiológusok Társasága 2000. évi Tudományos Kongresszusa, 2000. május 11-13., Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2000/3, 7, 2000.
4. TOTH, K., MARTON, ZS., KESMARKY, G., VEKASI, J., **PAPP, E.**, RUSSAI, R., CSER, A., JURICKSKAY, I. Hemorheological parameters in ischemic heart disease, hypertension and diabetes mellitus. Min. Cardioang., 48, Suppl. 1, 52, 2000.
5. **PAPP E.**, CZOPF L., MAGYAR É., FEHÉR CS., KOVÁCS L., HABON T., KÉSMÁRKY G., GASZTONYI B., TÓTH, K., MÓZSIK GY. A kis molekulásúlyú

heparin kezelés biztonságossága akut ischaemiás coronaria szindrómában. XLVIII. Dunántúli Belgyógyász Vándorgyűlés, 2001. június 14-16., Kaposvár, Magyar Belorv. Arch. Suppl. 2, 54, 68, 2001.

6. MÁRTON ZS., HORVÁTH B., KÉSMÁRKY G., NAGY B., **PAPP E.**, CZOPF L., HABON T., KOVÁCS L., TÓTH, K., MÓZSIK GY. A haemorheologiai faktorok és a thrombocyt-funkció mérésének jelentősége akut ischaemiás coronaria szindrómában. XLVIII. Dunántúli Belgyógyász Vándorgyűlés, 2001. június 14-16., Kaposvár, Magyar Belorv. Arch. Suppl. 2, 54, 70, 2001.
7. HORVÁTH B., MÁRTON ZS., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., CZOPF L., HABON T., HALMOSI R., KOVÁCS L., **PAPP E.**, SZABADOS E., JURICKAY I., TÓTH K. A thrombocyt aggregatio, a von Willebrand faktor aktiváció és a haemorheologiai paraméterek mérésének jelentősége acut ischaemiás coronaria syndromában. Magyar Kardiológusok Társasága 2002. évi Tudományos Kongresszusa, 2002. április 30-május 3., Balatonfüred, Card. Hung. Suppl. 2002/1, 20, 2002.
8. **PAPP E.**, CZOPF L., MÁRTON ZS., SZABADOS E., MAGYAR É., JURICKAY I., MELEGH B., TÓTH K. PLA gén polymorphysmus acut ischaemiás coronaria syndromán átesett betegekben. Magyar Kardiológusok Társasága 2002. évi Tudományos Kongresszusa, 2002. április 30-május 3., Balatonfüred, Card. Hung. Suppl. 2002/1, 22, 2002.

9. CZOPF, L., BOSZ, N., **PAPP, E.**, HABON, T., KESZTHELYI, ZS., TOTH, K., MOZSIK, GY. Variability of transthoracic electrical impedance and estimated stroke volume index in young healthy volunteers. XIVth World Congress of Cardiology, May 5-9, 2002, Sydney, Australia, J. Am. Coll. Cardiol., 39, Suppl. B, 230B, 2002.
10. **PAPP E.**, CZOPF L., HABON T., HALMOSI R., KOVÁCS L., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., MELEGH B., TAHIN T., KOMÓCSI A., HORVÁTH I., TÓTH K., MÓZSIK GY. Drog indukálta fiatalkori miokardiális infarktus. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLIX. Vándorgyűlése, Nagykanizsa, 2002. június 13-15., Magyar Belorv. Arch. Suppl. 1/2002, 53, 2002.
11. BŐSZ N., CZOPF L., **PAPP E.**, TÓTH K., MÓZSIK GY. A mellkas alapimpedanciájának változása pericardialis folyadékgyülem eltávolítása során - Esetismertetés. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLIX. Vándorgyűlése, Nagykanizsa, 2002. június 13-15., Magyar Belorv. Arch. Suppl. 1/2002, 57-58, 2002.
12. **PAPP, E.**, CZOPF, L., MARTON, ZS., SZABADOS, E., MAGYAR, E., JURICKAY, I., MELEGH, B., TOTH, K. PLA gene polymorphism in patients with acute coronary syndromes. Eur. Heart J., 23 (Abs. Suppl.), 672, 2002.
13. **PAPP E.**, CZOPF L., MÁRTON ZS., SZABADOS E., MAGYAR É., JURICKAY I., MELEGH B., TÓTH K., MÓZSIK GY., Acetilszalícilsav-rezisztencia és PLA gén polimorfizmus akut ischaemiás coronaria-syndromán átesett betegekben. A Magyar

Belgyógyász Társaság XXXIX. Nagygyűlése, 2002. november 21-23., Budapest, Magyar Belorv. Arch., Suppl. 3/2002, 55, 110, 2002.

14. HABON T., CZOPF L., **PAPP E.**, SÁRI F., TÓTH K., MOLNÁR F.T. Video thorascopiával végzett és transoesophageális echocardiographiával kontrollált transdiaphragmális pericardium fenestratio. Magyar Kardiológusok Társasága 2003. évi Tudományos Kongresszusa, 2003. május 14-17., Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2003/2, A12, 2003.
15. HABON T., CZOPF L., **PAPP E.**, SÁRI F., TÓTH K., MOLNÁR F.T. Video-thorascopiával végzett és transoesophageális echocardiographiával kontrollált transdiaphragmalis pericardium fenestratio. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának 50. Jubileumi Vándorgyűlése, 2003. június 26-28., Pécs. Magyar Belorv. Arch. Suppl. 2003/2, 56-57, 2003.
16. TOTH, K., SZABADOS, E., **PAPP, E.**, EUROPA INVESTIGATORS The EUROPA trial: long-term effects of perindopril on the reduction of cardiac events in patients with proven stable coronary artery disease. IVth International Symposium on Myocardial Cytoprotection: From basic science to clinical perspectives, September 25-27, 2003, Pecs, Hungary. Exp. Clin. Cardiol., 8, 50-51, 2003.
17. CZOPF L., **PAPP E.**, BENE J., MAGYAR É., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., KÉSMÁRKY G., MELEGH B., TÓTH K. Genetikai tényezők szerepe a thrombocyta-aggregáció gátlásának hatékonyságában. Magyar Belgyógyász

Társaság Dunántúli Szekciójának LI. Vándorgyűlése, Hőgyész, 2004. május 27-29.
Magyar Belorv. Arch. Suppl. 1, 57, 44, 2004.

18. **PAPP E.**, BENE J., HAVASI V., KOMLÓSI K., GASZTONYI B., CZOPF L., HABON T., MELEGH B., TÓTH K. Négy genetikai mutáció vizsgálata magyarországi ischaemiás coronaria-szindrómán átesett betegekben. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának LI. Vándorgyűlése, Hőgyész, 2004. május 27-29. Magyar Belorv. Arch. Suppl. 1, 57, 106, 2004.

19. **PAPP E.**, BENE J., HAVASI V., KOMLÓSI K., MÓZSIK GY., GASZTONYI B., CZOPF L., HABON T., MELEGH B., TÓTH K. Három genetikai mutáció vizsgálata magyarországi akut iszkémiás koronária szindrómán átesett betegekben. A Magyar Belgyógyász Társaság XL. Nagygyűlése, 2004. november 11-13., Budapest, Magyar Belorv. Arch., Suppl. 2/2004, 57, 106, 2004.

20. **PAPP E.**, BENE J., HAVASI V., KOMLÓSI K., TALIÁN G., FEHÉR G., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., ALEXY T., FEHÉR CS., BARTHA É., CZOPF L., MELEGH B., TÓTH K. A P1A polimorfizmus kapcsolata a trombocita aggregáció gátlók ex vivo hatékonyságával. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának LII. Vándorgyűlése, Bükkfürdő, 2005. június 23-25.