

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

Ph.D. tézisek

DR. PAPP ELŐD

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

I. sz. Belgyógyászati Klinika

Programvezető: Prof. Dr. Tóth Kálmán

Pécs

2005.

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACE	angiotenzin konvertáló enzim
ADP	adenozin difoszfát
AICS	akut iszkémiás koronária szindróma
ASA	acetilszalicilsav
CABG	koronária bypass műtét (coronary artery bypass grafting)
cAMP	ciklikus adenzin monofoszfát
CI	konfidencia intervallum
COX	ciklooxigenáz
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 nekrozis faktor
Tx	tromboxán

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. 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.

HÁTTÉR

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.

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. **Endotél diszfunkció** során csökken az NO- és nő az endotelinprodukción. 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. A szimpatikus aktivitás növekedése elősegíti a plakkruptúrát. A plakkruptúra, ill. erózió elindítója egy új eseménysorozatnak, melyet **trombogenezisnek** hívunk.

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. A trombociták működésváltozásának második fázisa a vérlemezék aktivációja. A transzmembrán kalciumcsatornákon keresztül a sejt belsejébe jutó Ca^{++} ionok a vérlemezék alfa és denz granulumainak expresszióját okozzák és ez nagyszámú új adhezív protein (GP IIb/IIIa receptor) felszíni megjelenését eredményezi.

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. 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.

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.

Az acetilszalicilsav (ASA)

Több mint 100 éve, 1899-ben regisztrálták először az acidum acetylsalicylicumot Aspirin néven mint fájdalom-, lázcsillapító és gyulladáscsökkentő gyógyszert. Hemosztázist gátló hatása csak 1945 után derült ki, miután megfigyelték, hogy a fájdalomcsillapításra adott aspirin hemorrágiás szövődményeket okozhat. 1967-ben Weis és Aledort ismerte fel először a szalicilsav trombocitafunkciót gátló hatását, majd O'Brien javasolta elsőként terápiás alkalmazását aterotrombotikus szerként. 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.

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

Az ASA hatásmechanizmusa

Az ASA a trombocitákban irreverzibilisen acetilálja a ciklooxygenáz enzimet, kötődve annak terminális hidroxil csoportjához; az ilyen trombocita tromboxánképzése gátolt. A sejtmaggal nem rendelkező trombociták fehérjeszintézisre - és így új ciklooxygenáz enzim képzésre is - képtelenek lesznek. Az ASA-val kezelt trombocita egész életére - mintegy 10 napig - nem képes TxA₂ képzésre, csupán a csontvelőből származó új trombociták funkcionálhatnak.

Az ASA terápiás dózisa

Patrono (1989) vizsgálata szerint a TxA₂ 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 TxA₂ 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.

ASA-rezisztencia

Több mint 180 klinikai vizsgálat metaanalízise szerint az aspirin kardiovaszkuláris betegekben 25 %-kal csökkenti a szívinfarktust, a stroke, valamint a vaszkuláris halálozás rizikóját. 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. Miokardiális infarktuson átesett betegek körében az ASA 50 %-kal csökkentette a reinfarktuszok számát és 23 %-kal a kardiovaszkuláris mortalitást az akut eseményt követő 5 hét alatt placebohoz viszonyítva.

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 bizonyultak megfelelőnek náluk az aggregáció-gátlás hatékonysága, ASA rezisztenseknek nevezzük.

Az ASA non-reszponzió és rezisztencia magyarázata különböző lehet:

1. Az aspirin nem a legerősebb trombocitagató szer.

2. Az aspirinnel gátolt TxA_2 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-reszisztens – 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. Egy másik feltevés szerint a $\text{PI}^{\text{A}2}$ allél homozigóta betegek vérlemezkéi az agonista ingerre fokozott aktivációval válaszolnak, valamint kevésbé érzékenyek aspirin kezelésre. A különböző munkacsoportok a non-reszponder betegek arányát eltérő mértékűnek, de mindenképpen jelentősnek, mintegy 10-40 % közöttinek adják meg.

A trombocita-aktiváció és aggregáció egyes részfolyamatainak pontosabb feltárása lehetővé tette az ASA-tól eltérő hatásmechanizmusú, annál hatékonyabb gyógyszerek fejlesztését. 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.

Clopidogrel

A tienopiridinek családjába tartozó clopidogrel a trombociták P2Y_{12} purinerg receptorán hat, 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.

A hatás nagyfokú interindividuális variabilitást mutat, egyes kutatók szerint az eltérő hatásért az egyének genetikai különbözősége a felelős. A clopidogrel biztonságosságát és hatásosságát vaszkuláris iszkémiás történések megelőzésében két kettős 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 a clopidogrel szignifikánsan csökkentette az új iszkémiás történések előfordulását (miokardiális infarktus, iszkémiás stroke és vaszkuláris halál kombinált végpontja) az ASA-val összehasonlítva. A CURE vizsgálatban a betegeket randomizáltan clopidogrellel vagy placeboval, mindkettőt ASA és más standard terápiával kezelték. Az elsődleges végpont (kardiovaszkuláris halál, miokardiális infarktus vagy stroke) szempontjából a clopidogrel csoportban 20 % relatív rizikócsökkenést észleltek. A clopidogrel hatékonysága az alkalmazott ASA dózistól (75-325 mg/nap) függetlenül meg nyilvánult.

Clopidogrel rezisztencia

A kettős trombocita aggregáció gátló kezelés (ASA + clopidogrel) hatására PTCA-án átesett betegekben a sztent trombózis és in-sztent resztenózis 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. Jelentős interindividuális 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 inplantáción 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 PLA polimorfizmus szerepét vetette fel, további farmakogenetikai vizsgálatok szükségességét hangsúlyozva.

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 PLA polimorfizmus szerepét a különböző trombocita aggregáció gátló szerekkel szembeni rezisztencia kapcsán is felvetették.

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. Az interindividuális eltérések kb. 50 %-áért az ACE gén felelős. A humán ACE gén 16-os intronjában inzerció (I)/deléción (D) polimorfizmust mutattak ki, 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. Számos tanulmányt végeztek a DD genotípus és a miokardiális infarktus előfordulási gyakoriságának összefüggését vizsgálva, melyek egy része igazolta, más része kizárta a kapcsolatot. Ugyancsak ellentmondóak az eredmények az ACE gén és a PTCA utáni resztenózis kapcsolatáról is. Egyes szerzők az egymásnak ellentmondó eredményeket a különböző földrajzi területen élő populációk közötti genetikai különbségekkel magyarázzák.

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 egyéneknél emelkedett homocisztein szint észlelhető, főként csökkent szérumszint mellett. 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 egyéneknél 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 okozati kapcsolatot. A vizsgálatok egy része igazolta, mások cáfolták az összefüggést.

Glikoprotein (GP) IIIa tromboocita receptor PIA (A1/A2) polimorfizmus

PIA (tromboocita specifikus antigén) a GP IIb/IIIa családba tartozó vérlemezke membrán-receptor, amely a von Willebrand faktort és a fibrinogént köti meg, fontos szerepet játszva a tromboocita aggregációban. A PI^{A1} allél gyakorisága a kaukázusi rasszban 97,75 %, a PI^{A2} allél 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.

Limfotoxin alfa (LTA) génmutációk

A limfotoxin alfa egy gyulladáscsökkentő citokin, mely kulcsszerepet játszik a lokális vaszkuláris gyulladáscsökkentő folyamatok kezdetében. Hatással van az adhéziós molekulák termelésére, a trombogenezisre, a simaizom proliferációt fokozza, vasoaktív anyagok termelését serkenti, és elősegíti a tromboocita aggregációt. Ezen tulajdonságai miatt teoretikusan az ateroszklerózis plakkok kezdetében 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 szívinfarktusban játszott szerepét.

LTA 1: Limfotoxin A (TNF β) gén 1. intron 252 pozíciójában A és G nukleotidvariációk fordulhatnak elő. Japán kutatók a homozigóta GG genotípust miokardiális infarktuson átesett betegekben szignifikánsan gyakoribbnak találták, mint egészséges kontrollokban, ugyanakkor több európai vizsgálat nem talált összefüggést a homozigóta állapot és a szívinfaktus vagy iszkémiás szívbetegség között.

LTA 3: Limfotoxin 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 infarktuson átesett betegekben szignifikánsan gyakoribbnak találták, mint egészséges kontrollokban. Kaukázusi populációban nem vizsgálták a LTA C804A mutáció szerepét iszkémiás szívbetegeken.

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 betegekben. 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.

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.

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

Betegek:

181 AICS-án átesett betegben (68 nő, 113 férfi, átlagéletkor: $65,2 \pm 12,1$ év) vizsgáltuk a PIA, 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.

Módszerek:

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 restrikciós enzimmel emésztettük 37 °C-on 3 órán át. 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.

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 restrikciós 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.

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 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. 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.

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 genomialis 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 μ M 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 restrikciós 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

LTA3

A vizsgálat elvégzéséhez szükséges DNS izolálását alvadásgátolt perifériás vérmintából végeztük kisózásos technikával. A TNF β 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 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 genomialis 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), 1,5 mM MgCl₂, 1 egység Taq-polimeráz, 20 μ M 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.

Statisztika

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

Eredmények:

A betegek közül 117 PlA1/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 ($p < 0,05$).

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.

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.

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 PIA polimorfizmus és acetilszalicilsav rezisztencia közötti összefüggés vizsgálata

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.

Módszerek:

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 ismételt centrifugáltuk. A mérésekhez használt küvetékbe 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. 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.

PIA trombocita receptor A1/A2 polimorfizmus

Az előzőekben leírtaknak megfelelően végeztük a vizsgálatot.

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.

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.

Az iszkémiás szívbetegség rizikófaktorainak előfordulását vizsgálva a betegeknél és az ASA-t szedő magas rizikójú csoportnál azt találtuk, hogy 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 ($BMI > 25 \text{ kg/m}^2$).

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 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.

Clopidogrel kezelés hatásosság feltételezett genetikai hátterének vizsgálata

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 PI^{A2} allél gyakoriságát. Az AICS-át és az iszkémiás stroke-ot a korábbi 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.

Módszerek:

PIA trombocita receptor A1/A2 polimorfizmus

A korábban leírtaknak megfelelően végeztük a vizsgálatot.

Trombocita aggregáció gátlás vizsgálata

Az előzőekben leírtaknak megfelelően végeztük, azzal a különbséggel, hogy az adrenalin és kollagén helyett clopidogrel esetén az 50 μ l ADP (5 μ M és 10 μ M) indukálta aggregációt vizsgáltuk.

Statisztika

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

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 két betegcsoportban nem volt szignifikáns különbség a különböző rizikófaktorok előfordulási gyakorisága között. A clopidogrel rezisztens csoportban

szignifikánsan többen kaptak ASA-t is, mint a reagáló populációban. 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. 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.

ÖSSZEFOGLALÁS

A szomorú hazai mortalitási statisztikákért napjainkban elsősorban a kardiovaszkuláris betegségek a felelősek. Ezen betegségek súlyosabb 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. Szükségesnek 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-sztent reztenózis 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 szérumszintű homocisztein szint az AICS kialakulásának független rizikófaktora. Ismert, hogy a metilén tetrahidrofolát redukáz

enzim génjének C677T mutációja jelentősen befolyásolja a szérum homocisztein szintet, a kóros génre homozigóta egyénekben a homocisztein szint magasabb a normál egyénekéhez képest, a heterozigótákban a kettő között van. A kóros allél gyakoriságában nem találtunk szignifikáns különbséget betegeinkben, 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 bevezetése, bár a közelmúltban zárult NORVIT vizsgálat posztinfaktusos betegcsoportban a mortalitás növekedését igazolta a folsavat és B6 vitamint szedő egyéneknél.

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 előbbieken alapján felmerült, hogy a kóros D allélt hordozó, magasabb ACE szinttel rendelkező betegeknél 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 plakktörés 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 jönne. 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 hatástalanul 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 P1^{A2} allél szerepet játszhat az ASA rezisztencia kialakulásában.

Nem végeztek korábban tanulmányt a P1^{A2} allél szerepének vizsgálatára AICS-án, iszkémiás stroke-on átesett és ASA-ra nem megfelelően reagáló betegeknél. Jelen vizsgálatunkban a P1^{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 P1^{A2/A2} genotípusuk van javasolt ASA helyett más trombocita aggregáció gátló gyógyszer alkalmazása, lehetőség szerint olyan, amely esetében igazolható, hogy a P1^{A2} allél nem okoz terápia rezisztenciát.

A fenti eredmények alapján P1^{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 vérzéses 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 dózisu 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 betegeknél 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 PI^{A2} homozigóta betegek clopidogrellel történő kezelését.

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. A clopidogrel rezisztencia genetikai hátterének tisztázására további vizsgálatokra van szükség.
9. Vizsgálatunk alapján az iszkémiás eseményen átesett betegnél javasolt a PIA polimorfizmus vizsgálata, PI^{A2} hordozás esetén ASA helyett clopidogrellel történő szekunder prevenció kezeltés elkezdése.

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.*, 116, 479-482, 2005.
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? *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., JURICKAY 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.**, JURICKAY, 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., JURICKAY, 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. Háziorv. 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 válaszána k 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, hypertoniában 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., JURICKSKAY, 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., JURICKSKAY I., MELEGH B., TÓTH K., MÓZSIK GY., Acetilszalicilsav-rezisztencia és PIA 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 PIA polimorfizmus kapcsolata a trombocita aggregáció gátlók ex vivo hatékonyságával. Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának LII. Vándorgyűlése, Bükkfürdő, 2005. június 23-25.

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 Gyermekefejlődéstani 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.